



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

**Respuesta hormonal postprandial (GLP-1, GLP-2,
GIP, CCK, gastrina) y metabolismo de la glucosa
(glucosa, insulina, péptido c, glucagón) en pacientes
Colecistectomizados**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Fisiología

AUTOR

Lenin Brumel TAPIA ALEJOS

ASESOR

José Manuel ORTIZ SÁNCHEZ

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Tapia L. Respuesta hormonal postprandial (GLP-1, GLP-2, GIP, CCK, gastrina) y metabolismo de la glucosa (glucosa, insulina, péptido c, glucagón) en pacientes colecistectomizados [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2017.



1307
9(e)
59

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

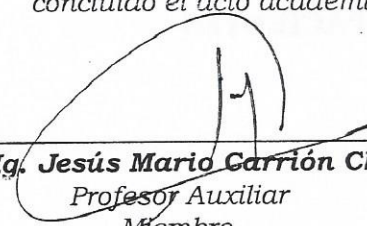
Unidad de Posgrado
Sección Maestría

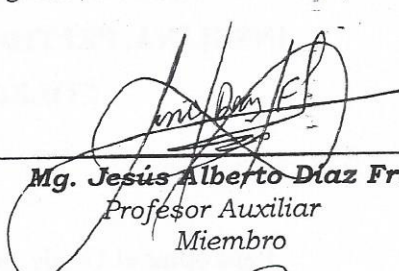



ACTA DE GRADO DE MAGISTER

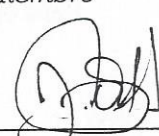
En la ciudad de Lima, a los 21 días del mes de setiembre del año dos mil diecisiete siendo las 2:00 horas, bajo la presidencia de la Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán con la asistencia de los Profesores: Mg. Jesús Mario Carrión Chambilla (Miembro), Mg. Jesús Alberto Díaz Franco (Miembro) Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas (Miembro) y el Mg. José Manuel Ortiz Sánchez (Asesor); el postulante al Grado de Magister en Fisiología, Bachiller en Medicina, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su tesis Titulada: **"RESPUESTA HORMONAL POSTPRANDIAL (GLP-1, GLP-2, GIP, CCK, GASTRINA) Y METABOLISMO DE LA GLUCOSA (GLUCOSA, INSULINA, PÉPTIDO C, GLUCAGON) EN PACIENTES COLECISTECTOMIZADOS"** con el fin de optar el Grado Académico de Magister en Fisiología. Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente **B MUY BUENO 17. A.** continuación la Presidenta del Jurado recomienda a la Facultad de Medicina se le otorgue el Grado Académico de **MAGÍSTER EN FISIOLOGÍA** al postulante **LENIN BRUMEL TAPIA ALEJOS.**

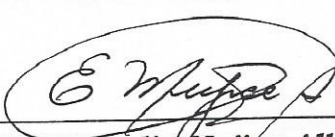
Se extiende la presente Acta en tres originales y siendo las 3:45 horas, se da por concluido el acto académico de sustentación.


Mg. Jesús Mario Carrión Chambilla
Profesor Auxiliar
Miembro


Mg. Jesús Alberto Díaz Franco
Profesor Auxiliar
Miembro


Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas
Profesor Principal
Miembro


Mg. José Manuel Ortiz Sánchez
Profesor Principal
Asesor


Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán
Profesora Principal
Presidenta

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CARÁTULA.....	I
ÍNDICE GENERAL.....	II
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	III
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.Situación Problemática.....	1
1.2.Formulación del Problema	2
1.3.Hipótesis.....	2
1.4.Justificación del problema.....	3
1.5.Objetivos.....	3
1.5.1. Objetivo general.....	3
1.5.2. Objetivos específicos.....	4
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	5
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.....	20
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1. Presentación de resultados.....	25
4.2. Análisis, Interpretación y discusión de resultados.....	43
CONCLUSIONES.....	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXOS.....	54

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Características de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015.

Tabla N° 2: Concentración plasmática basal y postprandial de la glucosa de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015.

Tabla N° 3: Concentración plasmática basal y postprandial de Insulina en los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre 2015.

Tabla N° 4: Concentración plasmática basal y postprandial de Péptido C de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 5: Concentración plasmática basal y postprandial del Glucagón de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 6: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-1 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 7: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-2 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 8: Concentración plasmática basal y postprandial del GIP de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 9: Concentración plasmática basal y postprandial de la CCK de la población de estudio en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 10: Concentración plasmática basal y postprandial de Gastrina de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 11: Comparación de medias de los parámetros en estudio según el tiempo de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Tabla N° 12: Comparación de medias de los parámetros en estudio según el tiempo de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Proceso postraducciona l de la molécula de proglucagón. Origen y localización de péptidos glucagón-like.

Figura N° 2: Vías de señalización del GLP-1 en la célula β pancreática. Mecanismos de liberación de insulina y proliferación celular.

Figura N° 3: Acciones del GLP-1 en tejidos periféricos. Efectos directos e indirectos sobre el páncreas, musculo, corazón, cerebro, tejido adiposo e hígado.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Concentración plasmática basal y postprandial de la glucosa de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015.

Gráfico N° 2: Concentración plasmática basal y postprandial de Insulina de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 3: Concentración plasmática basal y postprandial de Péptido C de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 4: Concentración plasmática basal y postprandial del Glucagón de los pacientes estudiado en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 5: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-1 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 6: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-2 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 7: Concentración plasmática basal y postprandial del GIP de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 8: Concentración plasmática basal y postprandial de la CCK de la población de estudio en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Gráfico N° 9: Concentración plasmática basal y postprandial de Gastrina de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

RESUMEN

Introducción: Los estudios preclínicos sugieren que la contracción vesicular, vía activación de las proteínas G unidas al receptor TGR5 en las células L intestinales inducidos por los ácidos biliares, juega un rol significativo en la secreción de la hormona incretina GLP-1 (glucagón like peptide – 1: péptido similar al glucagón tipo 1) y, por lo tanto, de la homeostasis de la glucosa postprandial. Nosotros evaluamos la secreción de las hormonas intestinales en pacientes colecistectomizados, evaluamos la hipótesis que la contracción vesicular potencia la liberación postprandial de GLP-1.

Materiales y Métodos: Es un estudio de Casos y Controles, diez pacientes colecistectomizados y 10 pacientes sanos de control, emparejados en edad, género e índice de masa corporal recibieron una dieta líquida estandarizada rica en grasa (526.3 kcal en promedio). Se midieron las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, péptido C, glucagón, GLP-1, polipéptido insulínico dependiente (GIP), glucagón – like peptide – 2 (GLP-2), colecistocinina (CCK), y gastrina basal y postprandial. El estudio se realizó en el Hospital de Huaycán entre enero y diciembre del 2015.

Resultados: Nosotros encontramos concentraciones similares de glucosa basal en los dos grupos, pero los sujetos colecistectomizados tuvieron un viraje elevado de la glucosa postprandial. Los pacientes colecistectomizados tuvieron preservado la respuesta del GLP-1 plasmático postprandial, comparado con los sujetos control. Además, los pacientes colecistectomizados exhibieron el glucagón en ayunas aumentado. Las concentraciones de la colecistocinina plasmática basal fue inferior y

fueron más elevadas las postprandiales en pacientes colecistectomizados. Las concentraciones de GIP, GLP-2, y gastrina fueron similares en los dos grupos.

Conclusión: Los pacientes colecistectomizados tuvieron preservados la respuesta de GLP-1 postprandial en respuesta a la disminución de la bilis duodenal, sugiriendo que la contracción vesicular no es un prerequisite para la liberación de GLP-1. Los pacientes colecistectomizados demostraron un leve deterioro del control glicémico postprandial, probablemente por los cambios metabólicos no relacionados a la secreción de incretinas.

Palabras Claves: ácidos biliares; vesícula biliar; incretinas; TGR5

ABSTRACT

Introduction: Preclinical studies suggest that gallbladder emptying, vía bile acid-induced activation of the G protein-coupled receptor TGR5 in intestinal L cells, may play a significant role in the secretion of the incretin hormone glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and, hence, postprandial glucose homeostasis. We examined the secretion of gut hormones in cholecystectomized subjects to test the hypothesis that gallbladder emptying potentiates postprandial release of GLP-1.

Materials and Methods: This study is a Cases and Controls, ten cholecystectomized subjects and 10 healthy, age, gender, and body mass index-matched control subjects received a standardized fat-rich liquid meal (526.3 kCal). Basal and postprandial plasma concentrations of glucose, insulin, C-peptide, glucagon, GLP-1, glucose-dependent insulino-trópico polypeptide (GIP), glucagon-like peptide-2 (GLP-2), cholecystokinin (CCK), and gastrin were measured. The study was realized at the Huaycan's Hospital between January to December 2015.

Results: We found similar basal glucose concentrations in the two groups, whereas cholecystectomized subjects had elevated postprandial glucose excursions. Cholecystectomized subjects had preserved postprandial plasma GLP-1 responses, compared with control subjects. In addition, cholecystectomized patients exhibited augmented fasting glucagon. Basal plasma CCK concentrations were lower y peak concentrations were higher in cholecystectomized patients. The concentrations of GIP, GLP-2, and gastrin were similar in the two groups.

Conclusion: Cholecystectomized subjects had preserved postprandial GLP-1 responses in spite of decreased duodenal bile delivery, suggesting that gallbladder emptying is not a prerequisite for GLP-1 release. Cholecystectomized patients demonstrated a slight deterioration of postprandial glycemic control, probably because of metabolic changes unrelated to incretin secretion.

Key words: bile acids; gallbladder; incretins; TGR5

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Situation Problemática

Dada la alta prevalencia de los pacientes sometidos a colecistectomías por diferentes patologías vesiculares, siendo la más frecuente la patología litiásica, conociendo que el ácido biliar juega un rol importante en el metabolismo tanto de lípidos como también de los carbohidratos. En este contexto la inexplicable alta prevalencia de pacientes colecistectomizados combinados con los pobres datos en hormonas glucometabólicos en estos pacientes fue lo que motivo nuestra presente investigación.

La ingestión de alimentos induce la activación de múltiples respuestas fisiológicas que proporcionan señales neuronales y endocrinas, reguladoras de la digestión, absorción y asimilación de los nutrientes ingeridos. En cierto momento se observó que, en sujetos normales, los niveles de insulina circulante en respuesta a la administración oral de glucosa eran significativamente más altos que los correspondientes tras la administración intravenosa del azúcar, y esta potenciación de la secreción de insulina asociada al intestino fue atribuida a uno o varios factores humorales o neuronales que se dieron en llamar incretinas. El termino incretina, por tanto, corresponde a aquellos factores liberados por el intestino tras la absorción de glucosa y otros nutrientes, que actúan directamente en el páncreas estimulando su secreción endocrina, concretamente la de insulina. Por ello, el concepto incretina es muy relacionado con el eje entero-insular propuesto por Unger y Eisentraut en 1969, el cual comprende a todos aquellos estímulos que, partiendo del intestino delgado, inciden por distintas vías, incluida la

nerviosa, en el islote de Langerhans, afectando a la liberación de sus distintas hormonas. El inicio de la identificación de los factores incretina no tuvo lugar hasta 1970, momento en el que se purificó y caracterizó el primero de ellos, el GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide). Pero aunque el GIP mostro ser un potente estimulador de la secreción de insulina tras la administración oral de glucosa, la eliminación del GIP por inmunoabsorción en la rata no anulaba el efecto incretina. Ello evidenciaba la existencia de otros factores con dicha actividad; de hecho, años después, en el transcurso del proceso de clonaje y caracterización del gen del proglucagón, se identificó un segundo factor, el GLP-1 (glucagón like peptide-1).

1.2. Formulación del Problema

¿Existen variaciones en la respuesta hormonal postprandial y en el metabolismo de la glucosa en pacientes colecistectomizados del Hospital de Huaycán en el periodo de enero a diciembre del 2015?

1.3. Hipótesis

En los pacientes colecistectomizados existen variaciones en la respuesta hormonal postprandial y del metabolismo de la glucosa

1.4. Justificación del problema

Con el propósito de entender los cambios fisiológicos que ocurren en los pacientes sometidos a colecistectomías, el presente estudio se diseñó basado en los conceptos que la contracción de la vesícula biliar postprandial y el flujo de bilis hacia el intestino potencia la secreción de GLP-1 (glucagón like peptide – 1: péptido similar al glucagón tipo 1) inducido por los nutrientes vía activación del receptor TGR5 (G protein-coupled bile acid receptor 1 o proteína G asociada a receptor de ácidos biliares), de las células L, vía los ácidos biliares.

Nuestra justificación fue la interrogante que los individuos colecistectomizados pueden tener dañado la liberación de GLP-1 (glucagón like peptide – 1: péptido similar al glucagón tipo 1) postprandial. De otra manera, el trabajo apuntó también a caracterizar el “paisaje” endocrino inexplorado previamente de los pacientes colecistectomizados, con énfasis en perfil hormonal intestinal y la homeostasis de la glucosa postprandial.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Evaluar las variaciones en la respuesta hormonal postprandial (GLP-1, GLP-2, GIP, CCK y Gastrina) y en el metabolismo de la glucosa (Glicemia, Insulina, Péptido C, Glucagón) en pacientes colecistectomizados del Hospital de Huaycán en el periodo de enero a diciembre del 2015.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración plasmática basal y postprandial de la glucosa
- Determinar las concentraciones basales y postprandiales de Insulina, Péptido C, Glucagón, GLP – 1 (glucagón like peptide - 1: péptido similar al glucagón tipo 1), GLP – 2 (glucagón like peptide – 2: péptido similar al glucagón tipo 2), Polipéptido Insulinotrópico Glucosa dependiente (GIP), Colecistocinina (CCK) y Gastrina
- Comparar las variaciones de las distintas hormonas estudiadas en los pacientes sanos y colecistectomizados.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

A pesar de los roles establecidos en la absorción de los lípidos dietarios y la homeostasis del colesterol, los ácidos biliares son ahora conocidos como reguladores metabólicos. Estudios preclínicos sugieren que el vaciamiento gástrico, vía la activación de las proteínas G unidas al receptor TGR5 por los ácidos biliares en las células L intestinales, juega un rol significativo en la secreción de la incretina glucagón like peptide-1 (GLP-1) y la homeostasis de la glucosa postprandial (Thomas, 2009). El GLP-1 y el polipéptido insulínico dependiente (GIP) son las principales hormonas incretinas y actúan en comunión para generar el llamado efecto incretina (Holst, 2007). El efecto incretina viene siendo definido como el aumento de la secreción de insulina después de la glucosa oral comparado con la secreción de insulina después de la glucosa endovenosa isoglicémica. El efecto incretina representa hasta el 70% de la secreción de insulina después de la ingestión de glucosa, dependiendo de la cantidad de azúcar (Holst, 2007). Los mecanismos subyacentes de la liberación de hormonas incretinas son pobremente entendidas. Las concentraciones del GLP-1 en plasma se elevan rápidamente después de la ingestión de una comida (Holst, 2007; Dubé, 2004; Kreyman, 1987; Toft-Nielsen, 2001). Los carbohidratos, proteínas, y lípidos son estímulos efectivos para la secreción del GLP-1 del intestino (Carr, 2008; Elliott, 1993; Gorboulev, 2012; Orskov, 1991; Van Cauter, 1992; Vilsboll, 2003).

En años recientes, se está aclarando que los ácidos biliares son los nuevos agentes identificados en la vía a través los cuales el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos son regulados. Los ácidos biliares se ligan al receptor X farnesoide nuclear

(FXR), un receptor (expresado en altas concentraciones en el hígado e intestino) que está implicado en el control de la glucosa (Claudel, 2005), y ellos además señalizan a través de la proteína G acoplada al receptor TGR5 de la superficie celular, lo cual es conocido que modula el gasto de energía en la grasa parda y células musculares (Thomas, 2009; Kawamata, 2003; Maruyama, 2002; Watanabe, 2006). El TGR5, presente en las células L que secretan el GLP-1 (Thomas, 2009; Katsuma, 2005), no es sensible a nutrientes pero se activa con los ácidos biliares, resultando en la liberación de GLP-1 (Thomas, 2009, Katsuma, 2005; Reimann, 2008). En esta línea, el flujo de los ácidos biliares en el intestino, seguido del vaciamiento vesicular, sugiere que juega un rol importante en la regulación de la homeostasis de la glucosa postprandial así como en todo el metabolismo humano (Thomas, 2009; Knop, 2010). En este contexto la inexplicable alta prevalencia de trastornos glucometabólicos en pacientes colecistectomizados (De Santis, 1997) combinados con los pobres datos en hormonas glucometabólicas en estos pacientes atrajo nuestro interés (Knop, 2010).

El presente estudio fue diseñado basado en el concepto que la contracción de la vesícula biliar postprandial y el flujo de bilis hacia el intestino potencia la secreción de GLP-1 nutriente inducido vía activación de los TGR5 de las células L inducido por los ácidos biliares. Consecuentemente, nuestra hipótesis fue que los individuos colecistectomizados pueden estar dañados en la liberación del GLP-1 postprandial. De otra forma, nosotros nos dirigimos a caracterizar el no estudiado “paisaje” hormonal de los pacientes colecistectomizados, con énfasis en el perfil hormonal intestinal y la homeostasis de la glucosa postprandial.

El GIP es un péptido con 42 aminoácidos, que se produce predominantemente en las células K del duodeno, en el extremo proximal del intestino delgado, aunque también se localiza en el sistema nervioso central, donde participa en el control de la supervivencia celular. El estímulo más importante para su secreción son los nutrientes, de forma que en el ayuno sus niveles permanecen bajos, y aumentan en pocos minutos tras la comida.

Los efectos del GIP están mediados por un receptor específicos del que existen dos isoformas, una de 466 aminoácidos y otra de 493, que se expresan en la célula β pancreática, tejido adiposo, corazón y cerebro. Aunque se ha observado que ambos receptores, el GIP y el GLP-1, sufren in vitro una rápida y reversible desensibilización homóloga y heterogénea, in vivo está solo detecta en el del GIP; no se ha encontrado relación entre los genes que codifican para ambos receptores y la posible susceptibilidad genética a padecer diabetes.

Ambos, el GIP y el GLP-1, estimulan la secreción de insulina de forma dependiente a la glucosa, por activación de una proteína G específica acoplada al receptor que se expresa directamente en la célula β . El mecanismo por el cual ambas incretinas activan la secreción de insulina solo a altas concentraciones de glucosa, se desconoce por el momento, pero su efecto está acoplado a la adenilato ciclasa, a un incremento del Ca^{2+} y al flujo de ácido araquidónico, y en su acción se activan rutas dependientes de factores de crecimiento como la de las MAPKs (ERK 1 y 2), la PI3K o la PKB (AKT). El GIP, además de insulínico, muestra cierta acción proliferativa y antiapoptótica en la célula β del islote, y mejora la supervivencia de células INS-1 de rata expuesta a wortmanina o estreptozotocina (STZ). Esta acción antiapoptótica del GIP está asociada a una reducción de la activación de caspasa 3 y es dependiente de la ruta p38MAPK. Así mismo, el GIP mejora la supervivencia de células INS-1 (832/13), sujetas a glucolipototoxicidad, y de islotes murinos, vía retro inhibición de la transcripción de un gen proapoptótico como Bax, y a través de una reducción de la expresión nuclear del factor transcripcional Foxo-1. Dos semanas de infusión de GIP retro inhiben el Bax e incrementan la expresión de Bcl2 en células β del páncreas de ratas obesas ZDF- Zucker diabetic fatty-, aunque la acción insulínica del GIP está disminuída en roedores hiperglucémicos, en parte debido a una disminución de la expresión de su receptor, se desconocen los factores implicados en el desarrollo de diabetes, y si los efectos del péptido sobre el crecimiento y supervivencia celular pueden estar afectados (Valverde, 2002; Drucker, 2006).

El GLP-1 se produce en las células enteroendocrinas de la región distal del intestino delgado y en el colon; sus niveles aumentan en escasos minutos tras la ingestión de

nutrientes, y parece que tanto factores neuronales como endocrinos promueven su secreción mucho antes de que los nutrientes atraviesen la pared intestinal y entre en contacto directo con las células L enteroendocrinas, responsables de su liberación. Aunque el GIP estimula la secreción de GLP-1 en algunas especies, se desconoce la totalidad de factores que participan en la liberación del péptido en el hombre.

La molécula del proglucagón humano, deducida de los nucleótidos del gen, y también la de los otros mamíferos, tienen 180 aminoácidos, veinte de los cuales forman el péptido señal, y el resto, la prohormona. Pero la cualidad de los péptidos originados del proglucagón depende del tejido de traducción, páncreas o intestino. En las células α pancreáticas, se produce, predominantemente, el fragmento 1-30, llamado también, GRPP o péptido pancreático relacionado con la glicentina, el 33-61 o glucagón, el 64-69, el 1-61, y la porción carboxi-terminal 72-158, denominada MPGF (Mayor Proglucagón Fragment). En las células L del intestino, del proglucagón se origina, fundamentalmente, la fracción 1-69, llamada glicentina, la 33-69 u oxintomodulina, el GLP-1, proglucagón 78-108 o proglucagón 78-107 amida, y el GLP-2 o proglucagón 126-158. La glicentina y la oxintomodulina corresponden a las fracciones I y II, respectivamente, del GLI (glucagón-like immunoreactivity) de extractos de intestino, que se liberan tras la administración, exclusivamente oral, de glucosa. Por otro lado, tanto en las células α del páncreas como en las L enteroendocrinas, se expresa el factor de transcripción cdx 2/3, que se encarga de la regulación del gen del proglucagón. En el intestino, el origen del GLP-1 parece estar condicionado a la expresión específica de tejido de las convertasas de prohormonas (PCs) en las células enteroendocrinas; mientras que tanto la PC1 como la PC2 escinden el proglucagón para generar MPGF, glicentina y oxintomodulina, solo la PC1 parece ser la enzima responsable de la producción de GLP-1 y GLP-2 (Holst, 2006; Salehi, 2006).

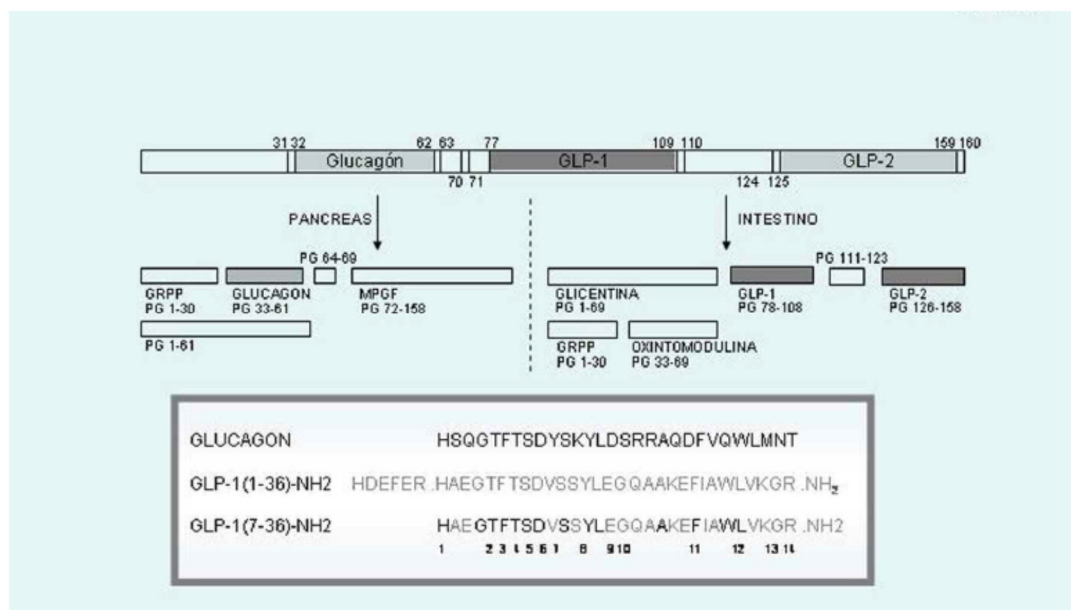


Figura N° 1: Proceso postraduccional de la molécula de proglucagón. Origen y localización de péptidos glucagón-like.

Fuente. Adaptado de Cancelas, J., Sancho, V., Valverde, I., Villanueva-Peñacarrillo, M. (2010). El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes. Las incretinas en la secreción de insulina (p. 96).

De todos los productos posibles de glucagón-like peptide-1, el GLP-1 es la forma predominante en el intestino de varios mamíferos, incluido el hombre, en los que su secuencia de aminoácidos no solo es idéntica, sino coincidente con la del glucagón en la posición de catorce de ellos. Además, el GLP-1 es el mayoritario en el plasma, tanto en condiciones basales como en el incremento observado tras una comida mixta o sobrecarga oral de glucosa. También, el aumento de inmunorreactividad al perfundir intraluminalmente glucosa en el íleon del cerdo y del perro se debe al GLP-1, cuya secreción aumenta tras la ingestión o infusión intraduodenal de grasas en el hombre y en el cerdo, respectivamente. Sin embargo, la información relativa a los niveles basales del GLP-1 en plasma, tanto en condiciones normales como en estados que cursan con alteraciones del metabolismo de la glucosa, ha sido, por lo general, y durante bastante tiempo, controvertida; de hecho, mientras que algunos autores describían niveles plasmático significativamente más altos en pacientes diabéticos no dependientes de

insulina que en sujetos sanos, otros decían ser más bajos. Últimamente, los resultados parecen más sólidos, e indican que en pacientes diabéticos tipo 2, y también en tipo 1, hay una menor liberación de GLP-1 que podría estar justificada por una ulterior desensibilización de la célula L. por otro lado, algunos afirman que la respuesta del péptido a estímulos está disminuida en los obesos.

En 1987 se documentó por primera vez la capacidad del GLP-1 para estimular la liberación de insulina, tras ser perfundido en el páncreas del cerdo, y también en infusión intravenosa en el hombre. Trabajos posteriores ampliaron la confirmación de este efecto – a concentraciones fisiológicas- en el páncreas aislado y perfundido del perro y de la rata, y en el islote aislado de ratón, así como su acción dependiente de la concentración de glucosa, tanto in vitro como in vivo. Además, se supo que el GLP-1 estimula la transcripción del gen de la insulina, que induce su acumulación en los gránulos secretores de células de líneas tumorales pancreáticas, que propicia la proliferación de las células β y la neogénesis del islote pancreático, con lo que su acción no extenua la capacidad de la célula; además, su efecto insulínico es más potente que el del GIP, si bien ambos participan en el efecto incretina. El 1992, se documentó por primera vez un efecto antidiabético del GLP-1 independiente de los niveles de insulina circulante, tanto en sujetos normales como diabéticos.

A lo anterior, hay que añadir su posible acción beneficiosa en relación a la secreción de insulina en la diabetes tipo 2, donde la célula β parece sufrir de una especie de ceguera específica hacia la hexosa por subexpresión del gen del GLUT-2, mutación del de la glucoquinasa, hiperactividad de la glucosa-6-fosfatasa, ausencia, heredada o adquirida, de la glicerolfosfato deshidrogenasa asociada al FAD mitocondrial, o incluso por una hiper-acumulación de glucógeno. De hecho, se sabe que, en el islote aislado de páncreas de rata, el GLP-1 mejora marcadamente la respuesta secretora de la célula β a determinados esteres de ácidos tricarboxílicos- nutrientes no glucídicos- intermediarios en el ciclo de Krebs, aun en ausencia total de glucosa. Está documentado que la secreción de insulina inducida por GLP-1 también es mayor en presencia del dimetil éster del ácido succínico y glutámico, y de metilpiruvato, tanto en la rata normal como en la diabética tipo 2- generada por tratamiento con STZ al

Fuente. Adaptado de Cancelas, J., Sancho, V., Valverde, I., Villanueva-Peñacarrillo, M. (2010). El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes. Las incretinas en la secreción de insulina (p. 99).

El GLP-1, como el GIP, activa la formación de AMPc y PKA, aunque inhibidores de la PKA no anulan por completo el efecto de las incretinas sobre la secreción de insulina. Esta secreción de insulina independiente de PKA ha sido atribuida a los GEFs factores de intercambio de nucleótidos guanina, concretamente a Epac 2, también llamado GEFII-AMPc, ya que una reducción de la expresión de GEFII atenúa sustancialmente los efectos del GLP-1 sobre la secreción de insulina. Se ha descrito cierto papel del receptor de sulfonilúreas – SUR - en la modulación del cierre de canal de K^+ dependiente de voltaje asociado al receptor de GLP-1. Aunque ambas incretinas activan la formación de AMPc en islotes SUR $-/-$, la secreción de insulina está claramente disminuída en estos ratones, seguramente debido a un defecto en el acoplamiento entre el AMPc y las rutas que regulan la exocitosis de insulina. Todo esto concuerda con la modulación por SUR 1 de la exocitosis regulada por Ca^{2+} dependiente de AMPc. El GLP-1, pero no el GIP, mantienen la acción insulínica en células Kir 6.2, lo que evidencia una vez más la divergencia existente entre las rutas de señalización de ambas incretinas y la complejidad de la acción del canal de K^+ dependiente de ATP en la célula β .

A diferencia de otros secretagogos que actúan prioritariamente a través del canal de K^+ dependiente de ATP, el GLP-1 es capaz de restablecer los depósitos de insulina estimulando la expresión del gen de la proinsulina. Este efecto estaría mediado por la activación del proceso de transcripción del gen de la proinsulina y la estabilización del ARNm por mecanismos dependientes de AMPc e independientes de PKA.

Concretamente, el factor de transcripción Pdx-1 se comporta como una diana esencial en la acción del GLP-1 sobre la expresión del gen de la insulina. El GLP-1 incrementa

Pdx-1, potenciando la expresión de su gen, y a su vez estimula la unión del factor al gen promotor de la insulina. Estudios realizados in vitro, en líneas celulares e islotes pancreáticos, e in vivo, en ratones con una inactivación del gen Pdx-1, demuestran que una disminución o una supresión de Pdx-1 está asociada a una disminución de la expresión del receptor de GLP-1 y una pérdida de acción del péptido en la célula.

El GLP-1 también disminuye la glucosa en sangre, en parte, por inhibición directa de la secreción de glucagón en las células α del islote, a través de la unión a su receptor y, en parte de forma indirecta, por su efecto sobre la secreción de insulina y somatostatina. Ratones con una inactivación específica en la célula β del gen de Pdx-1 muestran un defecto en la acción supresora de la exendina-4 (Ex4) agonista del receptor pancreático del GLP-1 en diferentes sistemas celulares, sobre la secreción de glucagón, lo que ilustra cierto papel de la célula β sobre la actividad secretora de la célula α . La supresión de la secreción de glucagón por el GLP-1, está regulada por glucosa, de manera que si la glucemia es normal este efecto supresor del péptido sobre la célula α es bloqueado, lo que ayuda a que el riesgo de hipoglicemia prácticamente no exista.

La activación del receptor pancreático del GLP-1 desencadena en líneas celulares exocrinas de roedores y humanos un programa de diferenciación hacia distintos fenotipos endocrinos, asociado a un incremento de la expresión de genes tales como Pdx-1, glucoquinasa y GLUT-2. Agonistas del receptor de GLP-1 pueden inducir diferenciación por activación de factores de transcripción tales como Foxa-2, que permiten un aumento en la expresión del gen Pdx-1. El GLP-1 es capaz además de promover la diferenciación de progenitores derivados de islotes humanos a células β funcionales. Estudios llevados a cabo con líneas celulares aisladas, en islotes normales o en roedores in vivo, muestran como la activación del receptor de GLP-1 también potencia la proliferación de células β . Tratamientos de cinco días con GLP-1 o Ex4 en ratas Wistar expuestas a STZ el día de nacimiento - diabéticas tipo 2, mejoran la masa de células β , y el efecto se prolonga incluso hasta 2 meses. Un tratamiento similar con Ex4, en este caso a ratas sometidas a un periodo de crecimiento uterino retardado, provoca, tras su nacimiento, una expansión de más células que previene del desarrollo

de diabetes. Este efecto de la Ex4, agonista del receptor pancreático de GLP-1, sobre la expresión de la masa de islotes, parece, al menos en ratones diabéticos y en ratas con pancreatectomía parcial, asociado a la expresión de Pdx-1. Tanto la acción proliferativa como la apoptótica de los agonistas del receptor pancreático del GLP-1 sobre la célula β , es dependiente de la expresión de Pdx-1. En este sentido, se ha observado que si se reduce la expresión de Pdx-1, también disminuye el número de receptores de GLP-1 así como la respuesta in vitro a la Ex4; y también como ratones con Pdx-1 inactivado de forma específica a nivel de células β tienen un mayor apoptosis y una menor respuesta a la Ex4.

El GLP-1 también mejora la protección y la expansión de la célula β inhibiendo distintas rutas apoptóticas. El péptido disminuye la expresión del gen de la caspasa 3 y la fragmentación nuclear en islotes de ratas Zucker diabéticas, mientras la Ex4 atenúa la apoptosis en ratones db/db y ratones salvajes tratados con STZ. La activación del receptor de GLP-1 reduce la apoptosis en células Min6 expuestas a especies reactivas del oxígeno- mediadoras de la citotoxicidad en la célula β como el H_2O_2 , de manera dependiente a AMPc y PI3K, y asociado a un incremento en la expresión de Bcl₂ y Bcl_{xL} y a una reducción de la hidrólisis por PARP poli (ADP – ribosa) polimerasa. Ambos, GLP-1 y Ex4, reducen la activación de caspasa 3 mediada por palmitato y la apoptosis mediada por PKA en células RINm5F. El aumento de AMPc inducido por el GLP-1 conduce a un aumento de la expresión de CREB, a una activación de IRS2 y a la potenciación de AKT. Por otro lado, el bloqueo dominante negativo de AKT in vitro suprime la acción antiapoptótica de la Ex4 en islotes murinos pancreáticos tras exposición a citoquinas. La activación del receptor de GLP-1 in vivo también reduce el estrés del retículo endoplásmico (RE) en islotes de ratón, reduce la fosforilación de F2 α , promueve la activación de ATF4, CHOP y sXBP-1, y modula PERK en la ruta de estrés del RE en la célula β pancreática. Agonistas del receptor de GLP-1 estimulan la proliferación de células β , en parte a través de la transactivación de EGFR o receptor del factor de crecimiento epidérmico. El GLP-1 también inhibe la factor transcripcional Foxo-1 en células de islote, a través de la exclusión nuclear dependiente de fosforilación de manera dependiente de EGFR, y la Ex4 no estimula la replicación de la célula β ni la expansión de masa del islote en ratones transgénicos

con expresión constitutiva de Foxo-1 en el núcleo (Holst, 2006; Salehi, 2006; Valverde, 2006; Meier, 2006).

En islotes murinos, el IRS-2 resulta esencial para que Ex4 estimule, por fosforilación de AKT, la expresión de Pdx-1 y con el crecimiento de la célula β , pero no así en la secreción de insulina. Desde el punto de vista clínico, ambas acciones del GLP-1, proliferativa y antiapoptótica, han elevado la posibilidad de que este pueda ser utilizado para preservar el crecimiento de la masa celular tras trasplante de islotes. Aunque la administración de Ex4 a ratones trasplantados no mejora el control glucémico, el pretratamiento con está de los cultivos de islotes que van a ser trasplantados ayuda a revertir la hipoglucemia tras la intervención.

Cabe destacar que todos los efectos del GLP-1 sobre la secreción de insulina, proliferación de células β y supervivencia celular, han sido también confirmados en experimentos realizados con islotes humanos aislados. El GLP-1 induce la despolarización de la membrana, inhibe el flujo de K^+ dependiente de ATP y potencia la exocitosis de Ca^{2+} en células β de humanos; además, acelera el flujo de Ca^{2+} a través de canales dependientes de voltaje (tipo L) y potencian la exocitosis en una zona alejada del punto de acumulación de Ca^{2+} intracelular, que es inhibido por antagonistas de: AMPc, del canal de Ca^{2+} tipo L (nimodipines), de la ATPasa de Ca^{2+} presente en el RE (thapsigargina), o por rianodine. También promueve una de las rutas dependientes del factor de crecimiento epidérmico en islotes humanos in vitro con activación de Rap y B-Raf y, en ocasiones, con un incremento de la actividad ERK, AKT y PI3K; además, mejora la secreción de insulina estimulada por glucosa, incrementa la expresión de Bcl2 y disminuye la de Bax, mejorando la supervivencia celular en islotes humanos en cultivo durante 72 horas. También reduce la apoptosis en islotes humanos inducida por elevación de glucosa y/o palmitato. Desde el punto de vista evolutivo, existen evidencias de que las rutas de señalización del GLP-1 están muy conservadas, siendo prácticamente idénticas en roedores y humanos.

El GLP-1 también actúa directamente en el estómago, donde inhibe la secreción ácida y enlentece su vaciamiento; además, tiene acción sobre el sistema nervioso central, y parece intervenir en el control de la ingestión de alimentos, generando sensación de saciedad. Pero la investigación constante sobre las propiedades del GLP-1 está sacando a la luz otros efectos que, como el que se acaba de mencionar, no están directamente relacionados con el metabolismo de la glucosa. De hecho, se ha propuesto al GLP-1, y a análogos con capacidad de unión a su receptor cerebral, y de acción más prolongada, como posibles agentes terapéuticos en la enfermedad de Alzheimer y en otros procesos neurodegenerativos del sistema nervioso central y periférico. Esta última propiedad de péptido está basada en su demostrada acción neurotrófica en células neuronales en cultivo, a las que protege contra la apoptosis inducida por glutamato, y contra el daño oxidativo, y en su capacidad para modificar el proceso precursor de la proteína β amiloide, y reducir, en neuronas del hipocampo, *in vitro*, y en función de la dosis, los niveles de la propia proteína. En relación a esto, se ha documentado en ratones, que el GLP-1 es un potente neuroprotector, y su receptor cerebral ha sido relacionado con el aprendizaje, puesto que aquellos animales con sobreexposición del mismo en el hipocampo muestran una mayor capacidad de memorización.

Además, el GLP-1 incrementa en roedores la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea, mejora la función endotelial en pacientes con diabetes tipo 2 y la función del miocardio, aumentando la captación de glucosa y la contractilidad ventricular, y también reduce el tamaño de los infartos en corazones perfundidos de rata y en modelos animales de isquemia miocárdica. Por lo que se propone al GLP-1 como un factor protector frente a la isquemia.

Últimamente, se ha postulado, además, que hormonas con carácter incretina, es decir, el GLP-1 y el GIP, intervendrían, directa o indirectamente, en el proceso de remodelado óseo que se produce tras la absorción de nutrientes (Toft-Nielsen, 2001; Maruyama, 2002; Salehi, 2006; Valverde, 2006).

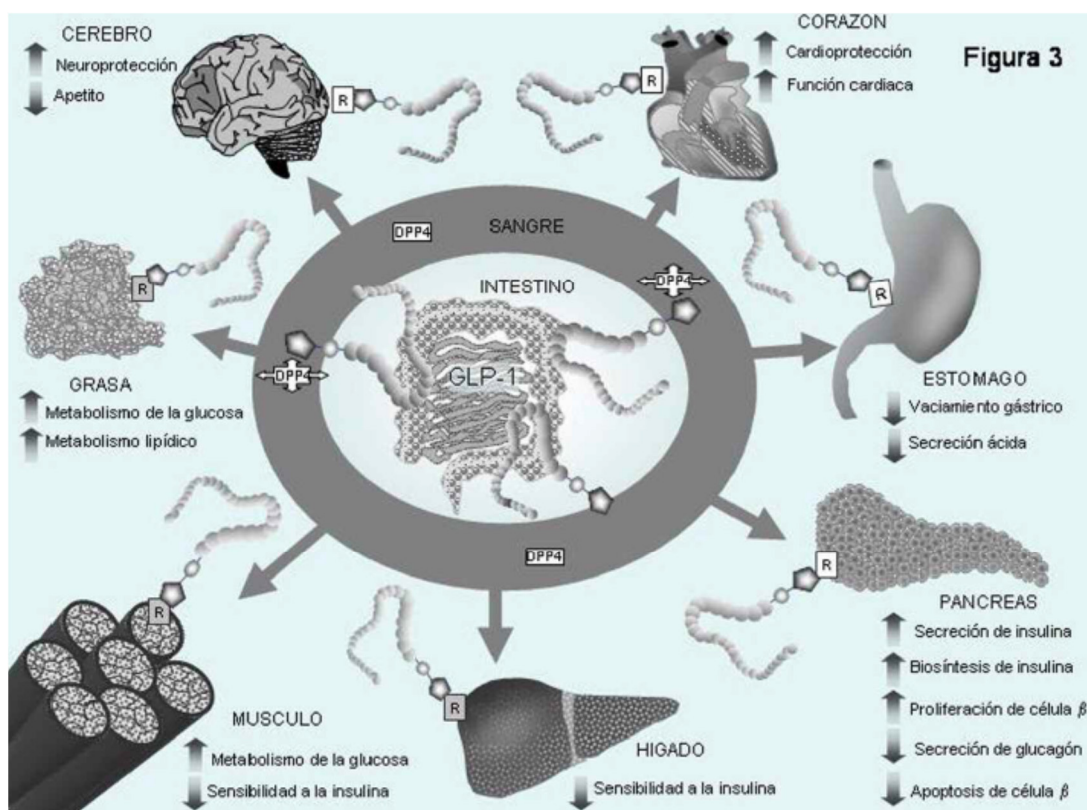


Figura N° 3: Acciones del GLP-1 en tejidos periféricos. Efectos directos e indirectos sobre el páncreas, músculo, corazón, cerebro, tejido adiposo e hígado.

Fuente. Adaptado de Cancelas, J., Sancho, V., Valverde, I., Villanueva-Peñacarrillo, M. (2010). El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes. Las incretinas en la secreción de insulina (p. 103).

Las características del efecto antidiabético del GLP-1 dieron lugar a intuir su acción directa sobre el metabolismo de la glucosa, y ello impulsó la búsqueda de su receptor, a parte del páncreas, en otros tejidos participantes en la homeóstasis del azúcar. Como consecuencia, se ha descrito la presencia de receptores específicos para GLP-1 en el tejido adiposo de la rata y del hombre, normal y diabético, y su efecto estimulador de la concentración intracelular de AMPc. Los receptores para GLP-1 también están presente en el hígado y en el músculo esquelético de la rata, tejidos en los que parecer ser estructural y funcionalmente distinto del pancreático, puesto que no propicia en ellos la producción de AMPc; en el adiposo, sin embargo, no solo estimula la

generación de cAMP sino que, como en el caso del hígado y músculo, también promueve la generación de inositolfosfoglicanos (IPGs), un segundo mensajero en la acción de la insulina, con lo cual cabe la posibilidad de que la acción del GLP-1 en el adipocito este mediada por dos tipos de receptor. Además, el GLP-1 mimetiza a la insulina en su efecto estimulador sobre los IPGs en una línea celular de miocitos en cultivo, la BC3H-1, en otra de hepatoma humano, la HepG2, y en adipocitos y hepatocitos aislados de rata; también es mimético de su acción en el tejido adiposo, en el musculo abdominal de ratón, y en distintas líneas de células musculares en cultivo. De hecho, el tejido adiposo de la rata, el GLP-1 no solo estimula la lipólisis sino también la lipogénesis, además de la síntesis de glucógeno, a través de la activación de la glucógeno sintetasa, el transporte, oxidación y utilización de glucosa, efectos, varios de ellos, adicionalmente descritos en el hígado y en el musculo esquelético tanto de la rata como del hombre. También se han detectado receptores para GLP-1 en las glándulas oxínticas del estómago, en el pulmón y, en el cerebro.

La acción directa del GLP-1 sobre el metabolismo de la glucosa en tejidos extra pancreáticos concuerda, además, con resultados de estudios in vivo, en los que el tratamiento de la rata con el péptido durante 48 horas mejora la intolerancia a la glucosa que aparece con el envejecimiento. Además, el GLP-1 regula, a nivel traduccional o post-traduccional, la expresión del GLUT-2 y GLUT-4 en hígado, musculo y tejido adiposo de la rata normal y diabética. También se ha demostrado que, en el perro, el GLP-1 incrementa la utilización de glucosa en el hígado, que la consecución de su efecto requiere su infusión prolongada, y que este es aditivo al de la insulina, independientemente de la vía de administración.

El papel de las incretinas ha sido objeto de estudio los últimos 20 años, concretamente los numerosos efectos descritos del GLP-1, tanto sobre la célula β , como sobre tejidos extra pancreáticos tales como el cerebro, el musculo, la grasa o el corazón, han hecho que algunos derivados de este y de una molécula estructuralmente relacionada, como es la Ex4, se encuentren en fase avanzada de investigación clínica, con resultados más que prometedores en cuanto al control de la homeostasis de la glucosa y peso corporal. El conocimiento de los mecanismos que controlan la secreción y acción del GLP-1 a

nivel proliferativo y antiapoptótico, aun escaso, permitirá su aplicación en la posible reversión del desarrollo natural de la diabetes tipo 2 (Salehi, 2006; Valverde, 2006; Meier, 2006).

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

Es un estudio No experimental, Longitudinal tipo Cohorte que evalúa 10 pacientes colecistectomizados y 10 pacientes sanos emparejados de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, donde se midieron la glicemia en ayunas, insulina, glucagón, péptido C, GLP-1, GLP-2, GIP, gastrina y colecistocinina, tanto en ayunas como post ingesta de un preparado calórico. Este estudio se realizó en el Hospital de Huaycán (distrito de Ate, Lima – Perú), de Enero a Diciembre del 2015.

El protocolo fue aprobado por el comité científico – ético (ANEXO N° 1) de la Dirección de Salud IV – Lima Este (DISA IV – Lima Este). El estudio fue conducido de acuerdo a los principios de la Declaración de Helsinki II. Se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los participantes (ANEXO N° 2).

Población de estudio

Siguiendo con nuestra evaluación y de acuerdo a nuestro criterio de inclusión y exclusión pre especificado (ver abajo), nosotros incluimos en el estudio 10 pacientes colecistectomizados (cirugía no complicada realizada 3 a 6 meses antes de la inclusión) y 10 personas saludables, emparejados en edad, género e Índice de Masa Corporal (IMC). Las características de nuestra población están presentadas en la *Tabla N° 1*. En el momento de la evaluación, todos los sujetos de estudio (n=20) siguieron una

evaluación clínica. Los criterios de exclusión incluyeron enfermedades agudas o crónica, los que están tomando medicación, los que tienen familiares de primer grado con diabetes, y los que mostraron anormalidades repetidas en la hemoglobina, enzima hepáticas en plasma (alanina o aspartato aminotransferasas), concentración de creatinina.

Tabla N° 1: Características de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015.

CARACTERÍSTICAS	PACIENTES	CONTROLES
Edad (años)	42.1 (33-64)	49.0 (38-66)
Sexo (M/F)	3/7	3/7
IMC (Kg/m ²)	27.0 (22.5-30.1)	27.6 (25.4-31.3)
Glicemia Basal (mg/dL)	87.6 (83-91)	71.7 (67-78)
Hb Glicosilada (%)	5.2 (5.0 – 5.4)	5.1 (5.1 – 5.3)
Diabetes en la Familia	Ninguno	Ninguno

Fuente. Ficha Adhoc

La toma de la muestra poblacional para el estudio, fue de tipo no probabilístico. Los datos fueron recolectados mediante una ficha clínica (ANEXO N° 3).

La muestra se obtuvo siguiendo los parámetros establecidos, por ser una variable cuantitativa con población conocida (en el Hospital de Huaycán se operó 106 colecistectomías convencionales hasta 6 meses antes de ejecutado el trabajo, con los criterios de inclusión y exclusión mencionados), se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \cdot z^2 \cdot \delta^2}{(N-1) \cdot E^2 + z^2 \cdot \delta^2}$$

Donde:

n: tamaño de la muestra

N: Población total, en nuestro trabajo son las 106 colecistectomías realizada previas la ejecución de nuestro trabajo

z: nivel de confianza, se tomó del 85%, de rango intermedio, que equivale a 1.04

δ : que es la varianza, por ser desconocido se asumirá el 50% (0.5)

E: es el error esperado que equivale a 0.15

Los pacientes acudieron al laboratorio en la mañana después de toda la noche (10 horas) en ayuno y evitando ejercicio físico extenuando por 12 horas. Se evitó sobre estimular a los participantes del estudio. Después de todo, los participante fueron colocados en una posición semiechada, recostado en sus espaldas con la parte superior del cuerpo 45° vertical, se insertó una cánula en la vena antecubital para recolectar las muestras sanguíneas y luego reposaron por 30 minutos. Después de tomar las muestras basales (en ayuno completo), los participantes ingirieron 525 Kcal de un líquido combinado (58g de carbohidratos, 28g de grasas, 10g de proteínas) por 10 minutos, luego de los cuales se obtuvo las muestras. Según los estudios la secreción de CCK por el intestino es una respuesta a la estimulación de los nutrientes, específicamente por las grasas y proteínas del quimo (Douglas, 1990; Lewis, 1990). El preparado consistió en 1 frasco de 180mL de yogurt Gloria sabor a fresa (Carbohidratos 26g, Lípidos 13g, proteínas 3g y 233 Kcal) y un 1 paquete de galleta cream cracker (carbohidratos 32g, lípidos 15g, proteínas 7g y 291 Kcal).

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas en ayunas, 30, 60, 90, 120 minutos después de la ingestión del líquido combinado. La sangre fue distribuida en tubos enfriados conteniendo EDTA y un inhibidor de la dipeptidasa dipeptidil específico 4 (DPP-4) para el análisis plasmático de las hormonas intestinales. Para el análisis de la insulina y el péptido – C sanguíneo fue distribuido en tubos enfriados conteniendo heparina. Los tubos de EDTA y heparina fueron inmediatamente enfriados y mantenidos helados hasta la centrifugación. Todas las muestras fueron centrifugados por 20 minutos a 1200 g y 4° C. las muestras plasmática para análisis de GLP-1, GLP-2, GIP, colecistocinina

(CCK) y gastrina fueron almacenados a -20°C , y las muestras plasmática para análisis de insulina y péptido – C fueron almacenados a -80°C hasta el análisis. Para las mediciones inmediatas de glucosa plasmática (GP), la sangre fue distribuida en tubo fluorados y centrifugados inmediatamente a 7400g por 2 minutos a temperatura ambiente.

Métodos de laboratorio

La glucosa plasmática (GP) fue medida por el método de la glucosa oxidasa, usando un analizador de glucosa (Yellow springs Instrument model 2300 STAT plus analyzer; YSI, Yellow Springs, OH). Las concentraciones de insulina y péptido – C plasmáticos fueron medidos usando y inmunoensayo electroquimoluminiscencia de 2 lados (Roche/Hitachi Modular analytics; Roche Diagnostic, Mannheim, Germany). Las concentraciones plasmática de GLP-1, GIP y glucagón-like peptide-2 (GLP-2), gastrina amidada, y CCK fueron medidos por radioinmunoensayo como fue descrito anteriormente (Krarup, 1984; Orskov, 1994; Rehfeld, 1998; Stadil, 1973). La prueba del glucagón fue directamente contra el terminal COOH de la molécula de glucagón de origen pancreático (Orskov, 1991).

Análisis estadístico

Los resultados son reportados como promedios \pm SE a menos que otro tema este establecido. La información se procesó en forma electrónica con el programa estadístico SPSS versión 20.0. Cada variable se definió de acuerdo a la operacionalización de variables respectiva. La tasa de secreción de insulina (ISR) fue calculado por deconvolución de las concentraciones medidas del péptido – C como se

describió previamente (Kjems, 2000; Kjems, 2001; Van Cauter, 1992). La sensibilidad a la insulina fue basada en el Índice de Sensibilidad de Matsuda, el cual cuenta para medir las concentraciones de insulina y glucosa durante una carga oral de glucosa (Orskov, 1994). Para el análisis de la variación y diferencias intergrupales entre periodos de tiempo, fue usada la medición repetida ANOVA. Este análisis provee valores P para la comparación entre los dos grupos, para cambios en el tiempo, y para la interacción entre los pacientes y en el tiempo. Si una interacción entre el sujeto de estudio y el periodo de tiempo estuvo presente, los valores los puntos individuales de tiempo fueron comparados usando el test de t de Student. Una doble lado de $P < 0.05$ fue usado para indicar el grado de significancia. Cuando el valor P individual estuvo presente, ello fue expresado en lugar de no significativo.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados

Se estudiaron 20 pacientes, 10 pacientes operados de colecistectomías por patología biliar y 10 pacientes sanos, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión. El promedio de edad fueron 42.1 años (33 el mínimo y 64 el máximo) del grupo de pacientes y 49 años (38 años el mínimo y 66 el máximo) del grupo control. Con respecto a la proporción de hombres / mujeres, fue de 3 / 7, es decir 3 hombres por 7 mujeres en ambos grupos estudiados.

Con respecto a las características antropométricas en promedio el grupo de pacientes tuvo un IMC de 27, fluctuando entre 22.5 y 30.1, y el grupo control tuvo un IMC de 27.6 de media, variando entre 25.4 y 31.3.

En cuanto a la hemática basal de nuestros pacientes, el grupo de pacientes tuvieron una glicemia basal promedio de 87.6, con un rango de 83 a 91mg/dL, y el grupo control tuvo una media de 71.7, oscilando entre 67 y 78mg/dL. Con respecto a la Hb Glicosilada, el grupo pacientes tuvo una media de 5.2%, con un valor mínimo de 5 y un máximo de 5.4, el grupo control tuvo en promedio de 5.1%, con una variación entre 5.1 y 5.3.

Con relación a los antecedentes patológicos, ningún paciente mostro familiar con diabetes mellitus, tanto del grupo pacientes como de control (Ver TABLA N° 1).

Las concentraciones de glucosa plasmática basal y postprandial media son mostradas en la TABLA N° 2 y GRÁFICO N° 1. Las concentraciones de glucosa plasmática basal fueron las siguientes en los dos grupos 80.6 ± 5.6 vs 79.3 ± 4.6 mg/dL, $P = 0.577$. Encontramos en nuestro estudio que la glicemia a los 30 minutos postprandial en nuestra población de estudio fueron de 144.8 ± 7.1 vs 139.1 ± 6.9 mg/dL, con una $P = 0.086$. A los 60 minutos se encontró los siguientes resultados de 181.8 ± 6.3 vs 167.8 ± 5.9 , con una $P = 0.000$. La glucosa a los 90 minutos en los pacientes de estudio arrojó 140.0 ± 6.3 vs 133.9 ± 4.8 , con una $P = 0.025$. Y a los 120 minutos mostro los valores de 130.1 ± 4.0 vs 121.8 ± 3.5 , con una $P = 0.000$.

Tabla N° 2: Concentración plasmática basal y postprandial de la glucosa de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

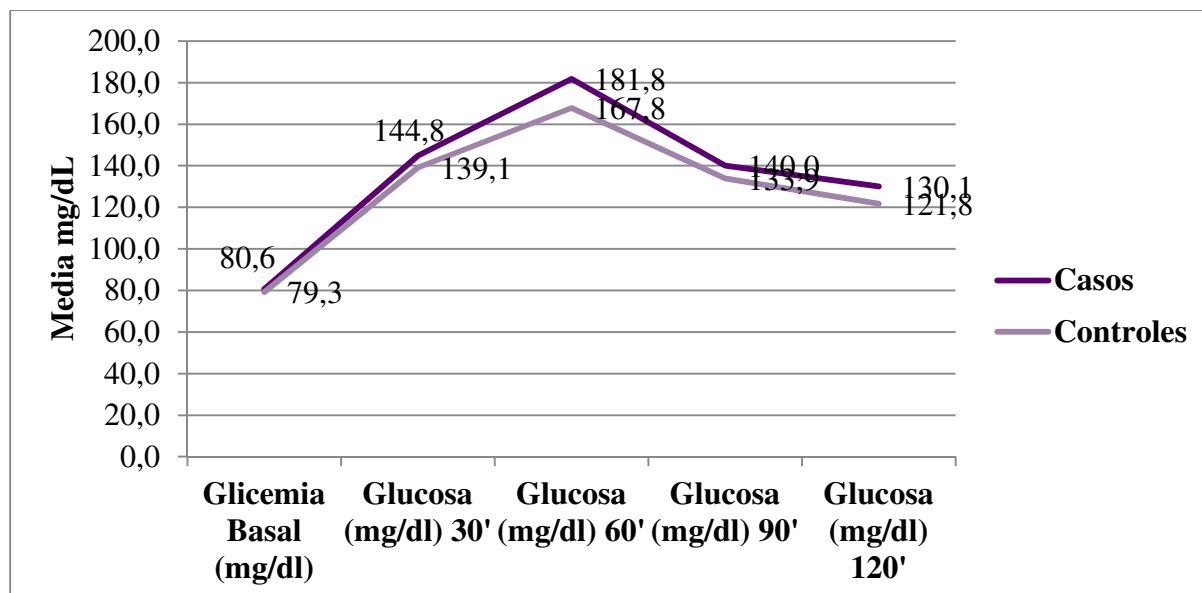
Glicemia en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	P
Glicemia Basal (mg/dl)	Casos	10	80,6	5,6	0,569	0,577
	Controles	10	79,3	4,6		
Glucosa (mg/dl) 30'	Casos	10	144,8	7,1	1,814	0,086
	Controles	10	139,1	6,9		
Glucosa (mg/dl) 60'	Casos	10	181,8	6,3	5,142	0,000*
	Controles	10	167,8	5,9		
Glucosa (mg/dl) 90'	Casos	10	140,0	6,3	2,443	0,025*
	Controles	10	133,9	4,8		
Glucosa (mg/dl) 120'	Casos	10	130,1	4,0	4,955	0,000*
	Controles	10	121,8	3,5		

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

Gráfico N° 1: Concentración plasmática basal y postprandial de la glucosa de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015.



Fuente. Ficha Adhoc

Las concentraciones de insulina y péptido C se muestran en la TABLA N° 3 y 4 y las GRÁFICAS N° 2 y 3. Las concentraciones basales de ambos péptidos, (11.27 ± 1.28 vs 11.00 ± 0.92) en el caso de la insulina y en el caso del péptido C (1.59 ± 0.20 vs 1.49 ± 0.20). Se evidencia que a los 30 minutos de ingerida la sustancia calórica los valores fueron de 41.12 ± 1.35 vs 39.90 ± 2.09 . A los 60 minutos los Casos fue de 35.42 ± 2.91 vs 35.60 ± 2.67 . Los valores obtenidos a los 90 minutos postprandial fue de 33.22 ± 0.81 vs 32.32 ± 1.00 . Y a los 120 minutos obtuvimos 28.51 ± 0.62 vs 27.00 ± 1.44 .

Tabla N° 3: Concentración plasmática basal y postprandial de Insulina en los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre 2015.

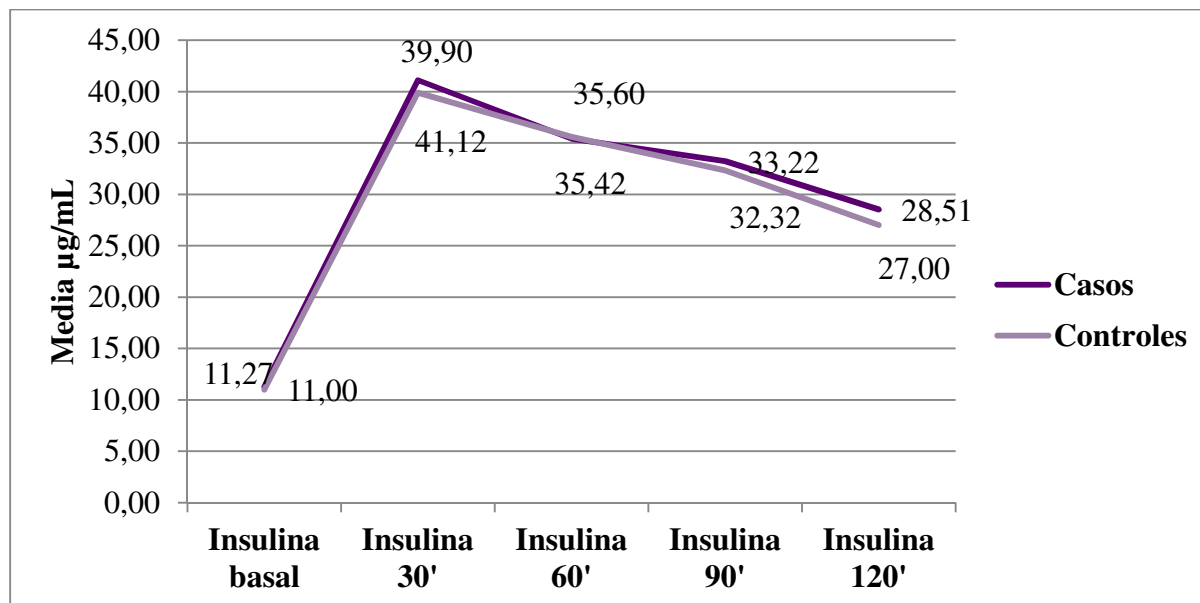
Insulina en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	P
Insulina basal	Casos	10	11,27	1,28	0,54	0,59
	Controles	10	11,00	0,92		
Insulina 30'	Casos	10	41,12	1,35	1,55	0,14
	Controles	10	39,90	2,09		
Insulina 60'	Casos	10	35,42	2,91	-0,14	0,89
	Controles	10	35,60	2,67		
Insulina 90'	Casos	10	33,22	0,81	2,21	0,04*
	Controles	10	32,32	1,00		
Insulina 120'	Casos	10	28,51	0,62	3,04	0,01*
	Controles	10	27,00	1,44		

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

Gráfico N° 2: Concentración plasmática basal y postprandial de Insulina de los pacientes estudiados del Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Tabla N° 4: Concentración plasmática basal y postprandial de Péptido C de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Péptido C en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	P
Péptido C ayunas	Casos	10	1,59	0,20	1,10	0,28
	Controles	10	1,49	0,20		
Péptido C 30'	Casos	10	4,75	0,11	2,41	0,03*
	Controles	10	4,62	0,13		
Péptido C 60'	Casos	10	5,26	0,14	1,70	0,10
	Controles	10	5,16	0,12		
Péptido C 90'	Casos	10	4,62	0,14	2,17	0,04*
	Controles	10	4,48	0,15		
Péptido C 120'	Casos	10	3,20	0,09	2,37	0,03*
	Controles	10	3,10	0,09		

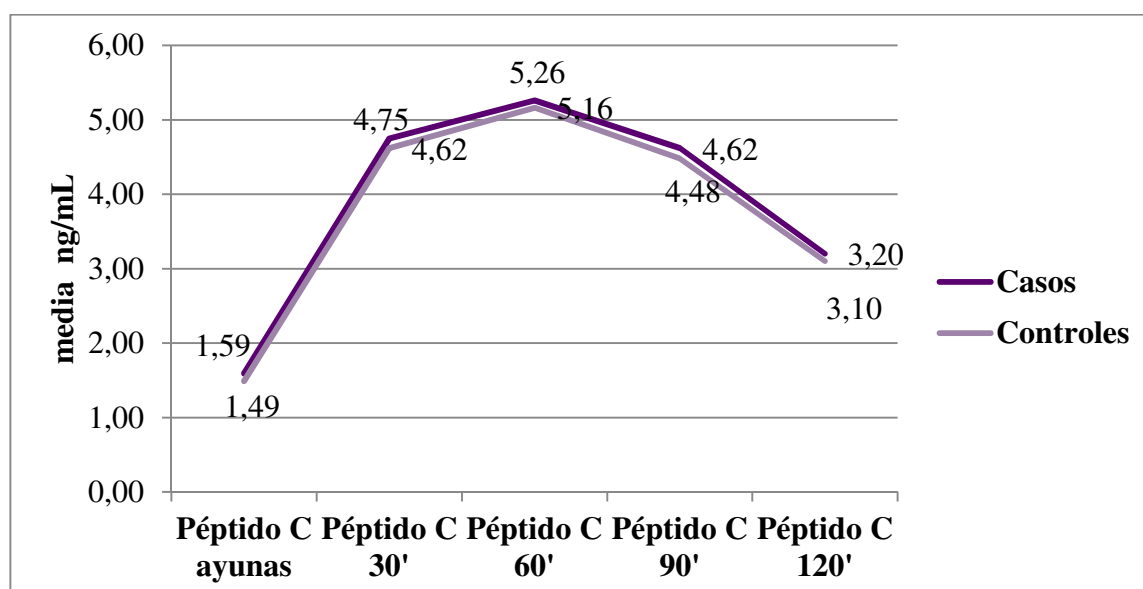
Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

De la tabla se observa que se encontró que las concentraciones basales de Péptido C fueron de 1.59 ± 0.20 vs 1.49 ± 0.20 ng/mL, $P = 0.28$. A los 30 minutos obtuvimos los valores de 4.75 ± 0.11 vs 4.62 ± 0.13 ng/mL, $P = 0.03$. A los 60 minutos pos ingesta del preparado se obtuvo 5.26 ± 0.14 vs 5.16 ± 0.12 ng/mL, $P = 0.10$. A los 90 minutos el cuadro arroja 4.62 ± 0.14 vs 4.48 ± 0.15 ng/mL, $P = 0.04$. Y a los 120 minutos nuestro grupo de estudio arroja 3.20 ± 0.09 vs 3.10 ± 0.09 ng/mL, $P = 0.03$.

Gráfico N° 3: Concentración plasmática basal y postprandial de Péptido C de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Las concentraciones plasmáticas de Glucagón son mostrados en la TABLA N° 5 y GRÁFICO N° 4. Las concentraciones basales obtenidas de Glucagón fueron 78.90 ± 1.20 vs 76.90 ± 2.13 pg/mL, $P = 0.02$. A los 30 minutos postprandiales obtuvimos 43.00 ± 2.36 vs 41.50 ± 2.32 pg/mL, $P = 0.17$. A los 60 minutos arrojo un resultado de 43.40 ± 1.71 vs 42.00 ± 1.25 pg/mL, $P = 0.04$. Los datos obtenidos a los 90 minutos nos muestran 56.90 ± 0.99 vs 54.80 ± 1.14 pg/mL, $P = 0.00$. Y a los 120 minutos, como vemos en la tabla, los valores de 63.50 ± 3.21 vs 60.90 ± 2.96 pg/mL, $P = 0.08$.

Tabla N° 5: Concentración plasmática basal y postprandial del Glucagón de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Glucagón en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	P
Glucagón ayunas	Casos	10	78,90	1,20	2,59	0,02*
	Controles	10	76,90	2,13		
Glucagón 30'	Casos	10	43,00	2,36	1,43	0,17
	Controles	10	41,50	2,32		
Glucagón 60'	Casos	10	43,40	1,71	2,09	0,04*
	Controles	10	42,00	1,25		
Glucagón 90'	Casos	10	56,90	0,99	4,40	0,00*
	Controles	10	54,80	1,14		
Glucagón 120'	Casos	10	63,50	3,21	1,88	0,08
	Controles	10	60,90	2,96		

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

Gráfico N° 4: Concentración plasmática basal y postprandial del Glucagón de los pacientes estudiado en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Las concentraciones plasmáticas del GLP-1 total son mostradas en la TABLA N° 6 y GRÁFICO N° 5. Las concentraciones de GLP-1 basal fueron 10.62 ± 0.49 vs 10.40 ± 0.24 pmol/L, $P = 0.21$. En nuestra población de estudio a los 30 minutos postprandial los valores arrojaron 17.81 ± 1.18 vs 16.64 ± 0.66 pmol/L, $P = 0.01$. A los 60 minutos los valores mostraron 27.46 ± 2.63 vs 26.20 ± 2.15 pmol/L, $P = 0.26$. Las cifras encontradas a los 90 minutos post ingesta fue de 15.70 ± 1.38 vs 15.32 ± 1.65 pmol/L, $P = 0.58$. Y a los 120 minutos los valores fueron de 14.09 ± 1.19 vs 13.46 ± 1.39 pmol/L, $P = 0.29$.

Tabla N° 6: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-1 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

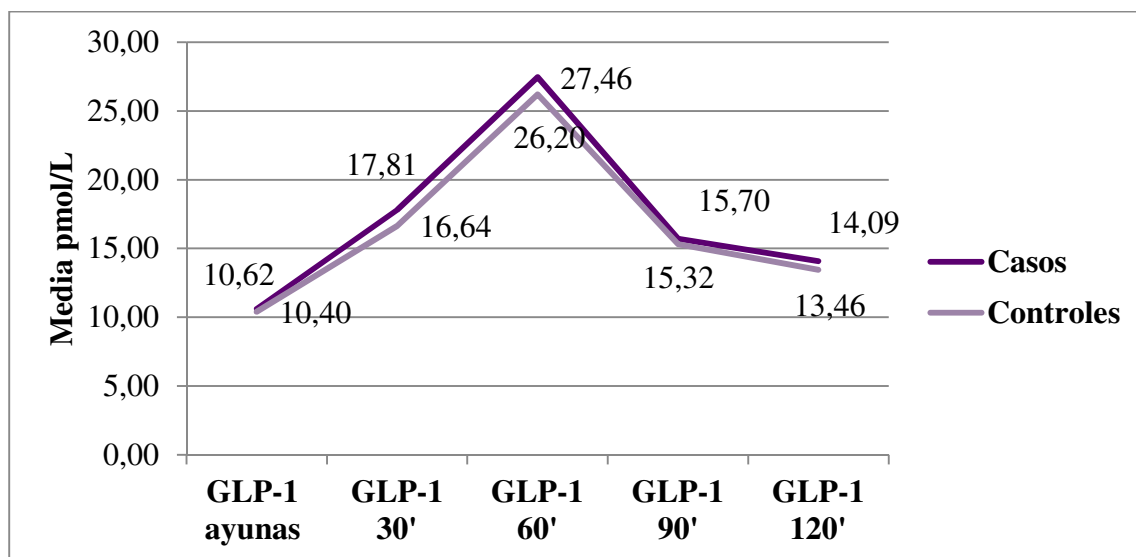
GLP – 1 en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	p
GLP-1 ayunas	Casos	10	10,62	0,49	1,29	0,21
	Controles	10	10,40	0,24		
GLP-1 30'	Casos	10	17,81	1,18	2,73	0,01*
	Controles	10	16,64	0,66		
GLP-1 60'	Casos	10	27,46	2,63	1,17	0,26
	Controles	10	26,20	2,15		
GLP-1 90'	Casos	10	15,70	1,38	0,56	0,58
	Controles	10	15,32	1,65		
GLP-1 120'	Casos	10	14,09	1,19	1,09	0,29
	Controles	10	13,46	1,39		

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

Gráfico N° 5: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-1 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Las concentraciones plasmáticas de GLP -2 y GIP totales son mostradas en las TABLAS N° 6 y 7 y las GRÁFICAS N° 6 y 7. Las concentraciones plasmáticas basales del GLP – 2 mostraron los valores de 10.50 ± 0.66 vs 10.14 ± 0.29 pmol/L, $P = 0.13$. Los valores de nuestros pacientes colecistectomizados y el grupo control a los 30 minutos post ingesta fueron 26.19 ± 1.98 vs 25.32 ± 2.16 pmol/L, $P = 0.36$. Los valores obtenidos de nuestros pacientes a los 60 minutos son 44.07 ± 1.91 vs 43.71 ± 0.45 pmol/L, $P = 0.66$. A los 90 minutos postprandial fue de 32.99 ± 0.78 vs 32.12 ± 0.88 pmol/L, $P = 0.03$. Y a los 120 minutos nos arrojó las cifras de 38.14 ± 5.14 vs 35.31 ± 1.10 pmol/L, $P = 0.12$.

Tabla N° 7: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-2 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

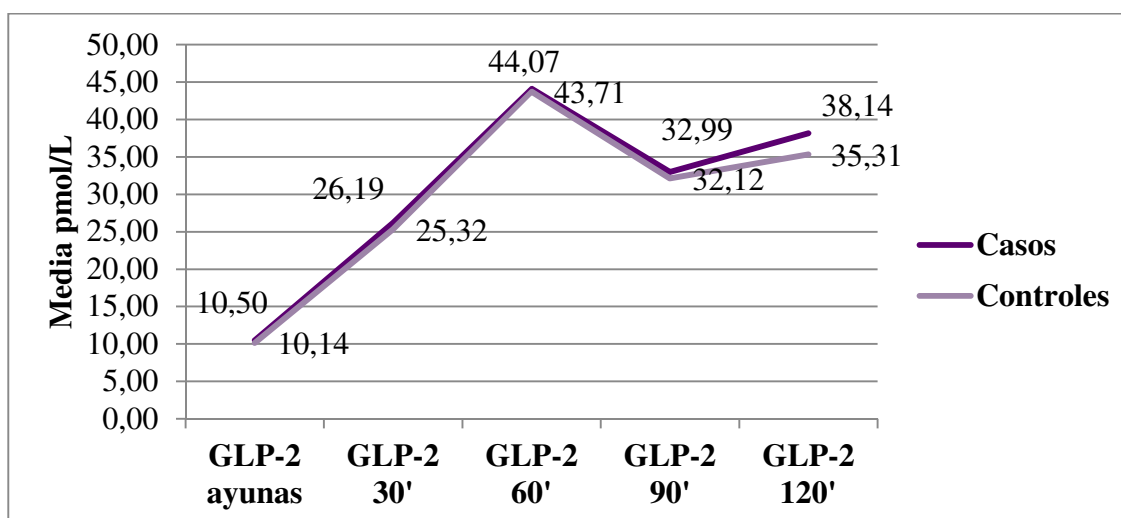
GLP – 2 en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T	p
GLP-2 ayunas	Casos	10	10,50	0,66	1,57	0,13
	Controles	10	10,14	0,29		
GLP-2 30'	Casos	10	26,19	1,98	0,94	0,36
	Controles	10	25,32	2,16		
GLP-2 60'	Casos	10	44,07	1,91	0,45	0,66
	Controles	10	43,71	1,64		
GLP-2 90'	Casos	10	32,99	0,78	2,34	0,03*
	Controles	10	32,12	0,88		
GLP-2 120'	Casos	10	38,14	5,34	1,64	0,12
	Controles	10	35,31	1,10		

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0,05$ existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

Gráfico N° 6: Concentración plasmática basal y postprandial del GLP-2 de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Tabla N° 8: Concentración plasmática basal y postprandial del GIP de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

GIP en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	p
GIP ayunas	Casos	10	8,98	0,40	-3,23	0,00*
	Controles	10	9,77	0,66		
GIP 30'	Casos	10	17,04	1,20	1,13	0,27
	Controles	10	16,39	1,36		
GIP 60'	Casos	10	32,03	1,53	-0,52	0,61
	Controles	10	32,42	1,82		
GIP 90'	Casos	10	26,14	1,29	1,30	0,21
	Controles	10	25,50	0,86		
GIP 120'	Casos	10	33,78	0,82	1,12	0,28
	Controles	10	33,23	1,33		

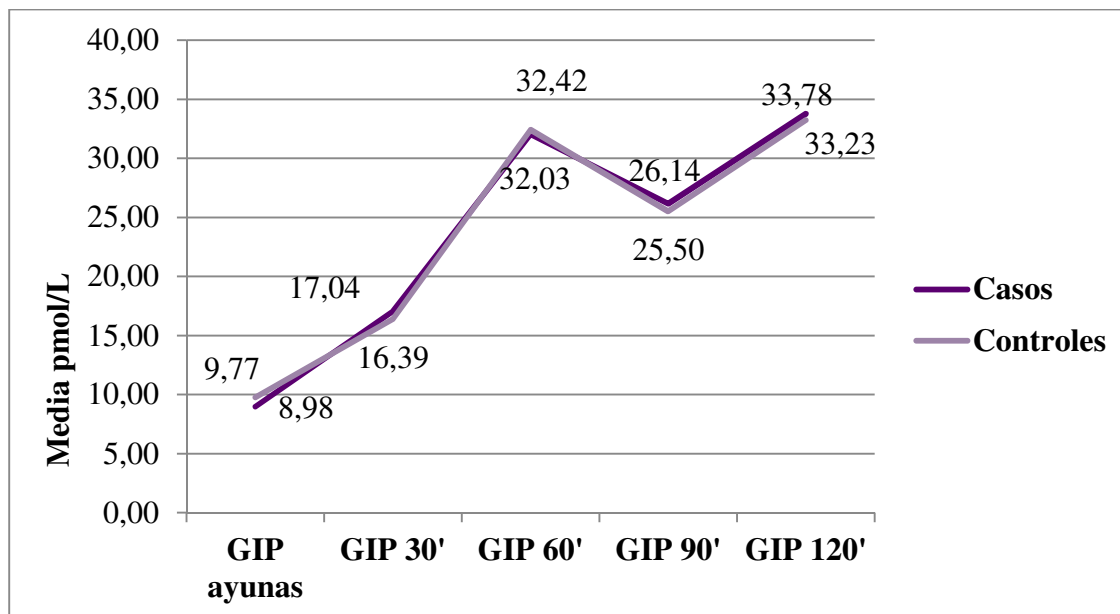
Fuente: Ficha Adhoc

*p<0,05 existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

De la tabla se observa que las concentraciones basales de GIP son de 8.98 ± 0.40 vs 9.77 ± 0.66 pmol/L, $P = 0.00$. A los 30 minutos nuestra población arrojó 17.04 ± 1.20 vs 16.39 ± 1.36 pmol/L, $P = 0.27$. Los valores obtenidos a los 60 minutos post ingesta del preparado fue 32.03 ± 1.53 vs 32.42 ± 1.82 pmol/L, $P = 0.61$. A los 90 minutos, ambos grupos de estudio nos daban los siguientes valores 26.14 ± 1.29 vs 25.50 ± 0.86 pmol/L, $P = 0.21$. Y a los 120 minutos nos muestra 33.78 ± 0.82 vs 33.23 ± 1.33 pmol/L, $P = 0.28$.

Gráfico N° 7: Concentración plasmática basal y postprandial del GIP de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Tabla N° 9: Concentración plasmática basal y postprandial de la CCK de la población de estudio en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

CCK en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T+	p
CCK ayunas	Casos	10	0,79	0,07	0	1
	Controles	10	0,79	0,11		
CCK 30'	Casos	10	4,61	0,15	1,94	0,07
	Controles	10	4,48	0,15		
CCK 60'	Casos	10	3,33	0,17	0,79	0,44
	Controles	10	3,27	0,17		
CCK 90'	Casos	10	3,67	0,13	1,81	0,09
	Controles	10	3,54	0,18		
CCK 120'	Casos	10	3,47	0,17	2,37	0,03*
	Controles	10	3,27	0,21		

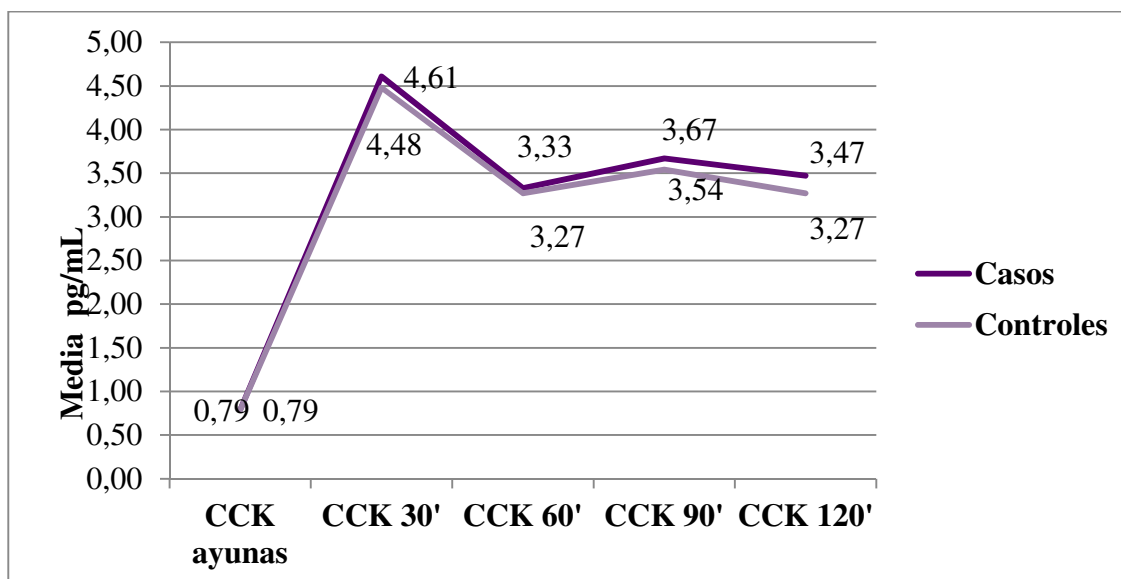
Fuente. Ficha Adhoc

*p<0,05 existen diferencias significativos

+ Prueba T para muestras independientes

De la tabla se observa que las concentraciones basales de la CCK fue de 0.79 ± 0.07 vs 0.79 ± 0.11 pg/mL, $P = 1$, las cifras encontradas a los 30 minutos de la ingesta del preparado fue de 4.61 ± 0.15 vs 4.48 ± 0.15 pg/mL, $P = 0.07$. A los 60 minutos postprandial nos muestra 3.33 ± 0.17 vs 3.27 ± 0.17 pg/mL, $P = 0.44$. Los valores obtenidos a los 90 minutos de la ingesta del preparado fue de 3.67 ± 0.13 vs 3.54 ± 0.18 pg/mL, $P = 0.09$. Y a los 120 minutos nuestros grupos de estudio arrojaban 3.47 ± 0.17 vs 3.27 ± 0.21 pg/mL, $P = 0.03$.

Gráfico N° 8: Concentración plasmática basal y postprandial de la CCK de la población de estudio en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Tabla N° 10: Concentración plasmática basal y postprandial de Gastrina de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

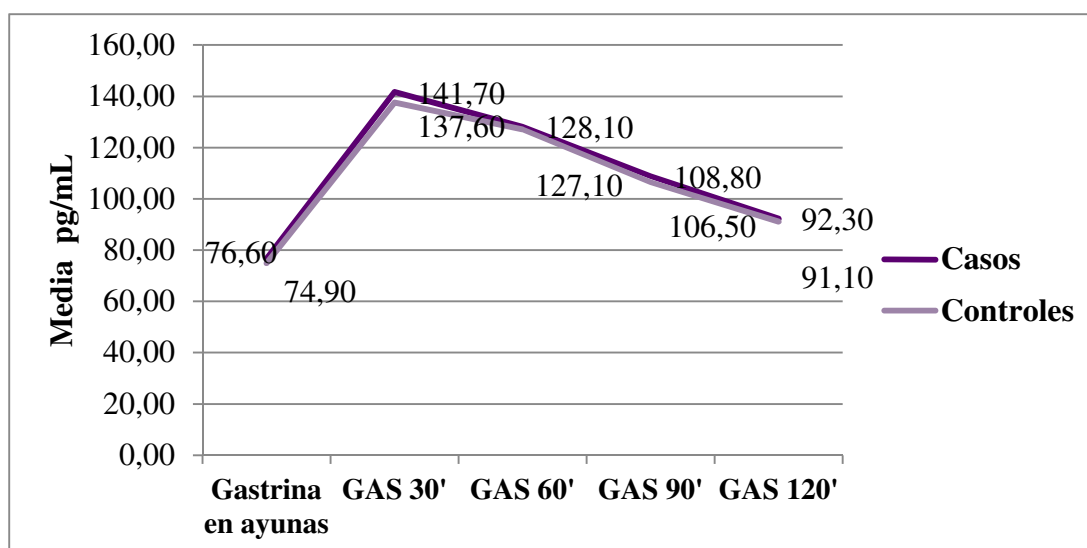
Gastrina en el Tiempo	Grupo	N	Media	Desviación Estándar	T	p
Gastrina en ayunas	Casos	10	76,60	3,20	1,34	0,20
	Controles	10	74,90	2,42		
GAS 30'	Casos	10	141,70	6,31	1,06	0,30
	Controles	10	137,60	10,42		
GAS 60'	Casos	10	128,10	4,43	0,46	0,65
	Controles	10	127,10	5,30		
GAS 90'	Casos	10	108,80	4,05	1,05	0,31
	Controles	10	106,50	5,62		
GAS 120'	Casos	10	92,30	2,54	1,25	0,23
	Controles	10	91,10	1,66		

Fuente. Ficha Adhoc

+ Prueba T para muestras independientes

Los pacientes de nuestro estudio, sea casos (pacientes post operados) y los controles (personas sanas), fueron analizados también en busca de una variación de la hormona Gastrina, por lo que las concentraciones basales fue de 76.60 ± 3.20 vs 74.90 ± 2.42 pg/mL, $P = 0.20$. Las concentraciones de Gastrina a los 30 minutos post ingesta del preparado fue de 141.70 ± 6.31 vs 137.60 ± 10.42 pg/mL, $P = 0.30$. A los 60 minutos postprandial las cifras son 128.10 ± 4.43 vs 127.10 ± 5.30 pg/mL, $P = 0.65$. Las concentraciones de Gastrina en los dos grupos a los 90 minutos nos muestra 108.80 ± 4.05 vs 106.50 ± 5.62 pg/mL, $P = 0.31$. Y a los 120 minutos las concentraciones son de 92.30 ± 2.54 vs 91.10 ± 1.66 pg/mL.

Gráfico N° 9: Concentración plasmática basal y postprandial de Gastrina de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015



Fuente. Ficha Adhoc

Tabla N° 11: Comparación de medias de los parámetros en estudio según el tiempo de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Parámetros Medidos	Tiempo	N	Caso		P	Controles		P
			Media	Desviación Estándar		Media	Desviación Estándar	
GLICEMIA	Basal	10	79,30	4,60	0.000*	79,30	4,60	0.000*
	30 minutos	10	139,10	6,92		139,10	6,92	
	60 minutos	10	167,80	5,87		167,80	5,87	
	90 minutos	10	133,90	4,79		133,90	4,79	
	120minutos	10	121,80	3,46		121,80	3,46	
	Total	50	128,38	29,54		128,38	29,54	
INSULINA	Basal	10	11,00	0,92	0.000*	11,00	0,92	0.000*
	30 minutos	10	39,90	2,09		39,90	2,09	
	60 minutos	10	35,60	2,67		35,60	2,67	
	90 minutos	10	32,32	1,00		32,32	1,00	
	120minutos	10	27,00	1,44		27,00	1,44	
	Total	50	29,16	10,25		29,16	10,25	
PÈPTIDO C	Basal	10	1,49	0,20	0.000*	1,49	0,20	0.000*
	30 minutos	10	4,62	0,13		4,62	0,13	
	60 minutos	10	4,48	0,15		4,48	0,15	
	90 minutos	10	4,48	0,15		4,48	0,15	
	120minutos	10	3,10	0,09		3,10	0,09	
	Total	50	3,63	1,23		3,63	1,23	
GLUCAGON	Basal	10	76,90	2,13	0.000*	76,90	2,13	0.000*
	30 minutos	10	41,50	2,32		41,50	2,32	
	60 minutos	10	42,00	1,25		42,00	1,25	
	90 minutos	10	54,80	1,14		54,80	1,14	
	120minutos	10	60,90	2,96		60,90	2,96	
	Total	50	55,22	13,44		55,22	13,44	
GLP-1	Basal	10	10,40	0,24	0.000*	10,40	0,24	0.000*
	30 minutos	10	16,64	0,66		16,64	0,66	

	60 minutos	10	26,20	2,15		26,20	2,15	
	90 minutos	10	15,32	1,65		15,32	1,65	
	120minutos	10	13,46	1,39		13,46	1,39	
	Total	50	16,40	5,55		16,40	5,55	

Fuente. Fichas Adhoc

*p<0.05 existe diferencias significativas + ANOVA

Tabla N° 12: Comparación de medias de los parámetros en estudio según el tiempo de los pacientes estudiados en el Hospital de Huaycán, Enero a Diciembre del 2015

Parámetros Medidos	Tiempo	N	Caso		P	Controles		P
			Media	Desviación Estándar		Media	Desviación Estándar	
GLP-2	Basal	10	10,14	0,29	0.000*	10,14	0,29	0.000*
	30 minutos	10	25,32	2,16		25,32	2,16	
	60 minutos	10	43,71	1,64		43,71	1,64	
	90 minutos	10	43,71	1,64		43,71	1,64	
	120minutos	10	35,31	1,10		35,31	1,10	
	Total	50	31,64	12,91		31,64	12,91	
GIP	Basal	10	9,77	0,66	0.000*	9,77	0,66	0.000*
	30 minutos	10	16,39	1,36		16,39	1,36	
	60 minutos	10	32,42	1,82		32,42	1,82	
	90 minutos	10	25,50	0,86		25,50	0,86	
	120minutos	10	33,23	1,33		33,23	1,33	
	Total	50	23,46	9,31		23,46	9,31	
CCK	Basal	10	0,79	0,11	0.000*	0,79	0,11	0.000*
	30 minutos	10	4,48	0,15		4,48	0,15	
	60 minutos	10	3,27	0,17		3,27	0,17	
	90 minutos	10	3,54	0,18		3,54	0,18	
	120minutos	10	3,27	0,21		3,27	0,21	
	Total	50	3,07	1,25		3,07	1,25	

GASTRINA	Basal	10	74,90	2,42	0.000*	74,90	2,42	0.000*
	30 minutos	10	137,60	10,42		137,60	10,42	
	60 minutos	10	127,10	5,30		127,10	5,30	
	90 minutos	10	106,50	5,62		106,50	5,62	
	120 minutos	10	91,10	1,66		91,10	1,66	
	Total	50	107,44	23,83		107,44	23,83	

Fuente. Ficha Adhoc

* $p < 0.05$ existe diferencias significativas + ANOVA

4.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados

Nuestro estudio muestra diferencias significativas $p < 0,05$ de la glucosa a los 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos, observándose mayor media de la glucosa en el los grupos de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control. Las concentraciones de Insulina y Péptido C se muestran en las tablas estudiadas y no se aprecian diferencias significativas entre las concentraciones basales de ambos péptidos, (11.27 ± 1.28 vs 11.00 ± 0.92) en el caso de la insulina y en el caso del péptido C (1.59 ± 0.20 vs 1.49 ± 0.20).

De las tablas también se observan que se encontró diferencias significativas $p < 0,05$ de la Insulina a los 90 y 120 minutos, observándose mayor media de la Insulina en el los grupos de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control. Las tablas también muestran diferencias significativas $p < 0,05$ del Péptido C a los 30 minutos, 90 minutos y 120 minutos, observándose mayor media de péptido C en el los grupos de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control.

Las concentraciones plasmáticas basales de Glucagón tienden a ser más altas en pacientes colecistectomizados comparados con los controles (78.9 ± 1.2 vs. 76.9 ± 2.13

pg/mL, $P = 0.02$). De las tablas se observan que se encontraron diferencias significativas $p < 0.05$ del Glucagón en ayunas, 60 minutos y 90 minutos, observándose mayor media del Glucagón en el grupo de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo controles.

Las concentraciones plasmáticas basales de GLP - 1, fueron similares en los dos grupos (10.62 ± 0.49 vs 10.40 ± 0.24 pmol/L, $P = 0.21$). De la tabla se observa que se encontró diferencias significativas $p < 0.05$ de la GLP 1, solo a los 30 minutos, observándose mayor media de la GLP - 1 en el grupo de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control.

Las concentraciones plasmáticas de GLP - 2 y GIP, son mostradas en las tablas correspondientes y se evidencia que sus concentraciones plasmáticas basales fueron similares en los dos grupos. De la tabla se observa que se encontró diferencias significativas $p < 0.05$ de la GLP 2 solo a los 90 minutos, observándose mayor media de la GLP - 2 en el grupo de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control. De la tabla se observa también que se encontró diferencias significativas $p < 0.05$ de la GIP en ayunas, observándose mayor media del GIP en el grupo de los pacientes colecistectomizados (casos) en relación al grupo control.

Las concentraciones plasmáticas de colecistocinina y gastrina son mostradas en las tablas y gráficos precedentes. Las concentraciones basales de colecistocinina fueron similares entre los pacientes colecistectomizados comparados con sujetos controles saludables (0.8 ± 0.1 vs. 0.75 ± 0.15 pg/mL, $P < 0.0001$). Se observa diferencias significativas $p < 0.05$ de la CCK a los 120 minutos, observándose mayor media de la CCK en el los grupos de los casos en relación al grupo control. Los pacientes colecistectomizados no exhibían diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas en ayuno de gastrina comparados con los sujetos control y exhibió una respuesta postprandial preservada de gastrina.

Nuestros hallazgos además revelan una homeostasis de la glucosa postprandial perturbada en pacientes colecistectomizados que pueden aumentar algunas consideraciones fisiopatológicas. Los pacientes fueron seleccionados de 3 a 6 meses después de una colecistectomía. Teniendo esto en cuenta, es notable que los valores de HbA_{1c} en estos pacientes tienden a ser más altos (5.2 ± 0.1 vs. 5.1 ± 0.1 , $P = 0.051$) comparados cuidadosamente en edad, género e IMC con los sujetos control (comparados 1:1). Sin embargo, con resultados no disímiles en la secreción de glucagón postprandial, virtualmente siempre presente en sujetos con diabetes tipo 2 comparados con individuos no diabéticos, y diferencias en concentraciones en ayuno de glucagón no alcanzando significancia estadística, nuestros resultados con respecto al glucagón debe ser interpretado con precaución.

Nuestro trabajo no está en la capacidad de mostrar diferencias significativas de resistencia a la insulina y/o índices de células β o índices de disponibilidad. En general, los resultados en respuesta de células β no alcanzaron significancia estadística, pero, en conjunto, los pacientes colecistectomizados tuvieron una tendencia a mostrar respuesta aumentada durante todo el tiempo de las pruebas comparado con los pacientes control. Combinado con las respuestas exageradas de glucosa, hiperglucagonemia en ayunas (aunque no estadísticamente significativa, en promedio), y valores cercanos en HbA_{1c}, nosotros podemos especular que el control glucémico en pacientes colecistectomizados progresa a un estado de resistencia a insulina leve, conduciendo a una disrupción homeostática de glucosa, quizás evolucionando mínimamente después de la disfunción de la vesícula biliar y/o la remoción de la vesícula biliar.

Ha habido reportes tempranos sugiriendo que los pacientes colecistectomizados están en riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (Abramson, 1957; De Santis, 1997; Rabinowitch, 1924), pero ningún estudio prospectivo randomizado controlado ha confirmado dicho riesgo. Porque la sugerencia que la activación de TGR5 puede ser un posible regulador de la secreción de GLP-1 (Thomas, 2009), nuestra hipótesis principal fue que el flujo postprandial reducido de bilis dentro del duodeno de pacientes colecistectomizados haría que resulte en la liberación de GLP-1 postprandial

reducida. Además, la capacidad de los ácidos biliares para activar el FXR, un receptor que está implicado en el metabolismo de la glucosa y los lípidos, puede además estar reducida en pacientes colecistectomizados, posiblemente afectando su regulación metabólica (Claudel, 2005). Sin embargo, esto debería ser conocido ya que el presente experimento no excluye la secreción de GLP-1 endógeno en humanos está regulado por los ácidos biliares (Kawamata, 2003; Maruyama, 2002; Thomas, 2009; Thomas, 2008; Watanabe, 2006). Una explicación convincente para nuestros resultados negativos podría ser que cada efecto de los ácidos biliares en los TGR5 medió la liberación de GLP-1 que se superpuso al macronutriente de la comida, lo cual por si sola constituye un potente estímulo de la secreción de GLP-1. En efecto, la activación del FXR y TGR5 dependen en la afinidad de unión para los ácidos biliares específicos (Kawamata, 2003). A este respecto, el ayuno, junto con las concentraciones interdigestivas de ácidos biliares intraduodenal, puede exceder la concentración efectiva media máxima de activación del TGR5 (Fiorucci, 2009). Muchos ácidos biliares activan el TGR5 en el rango micromolar a nanomolar, sugiriendo que el aumento postprandial en los ácidos biliares duodenal son capaces de incrementar las señales del TGR5 además.

Como se menciona en las distintas literaturas, los pacientes colecistectomizados no son capaces de provocar una liberación rápida de ácidos biliares en el duodeno después de la comida. Una explicación podría ser que los pacientes colecistectomizados muestran captación incrementada de ácidos biliares intestinales (Koide, 1993; McDonnell, 2002), resultando en una regulación Feedback negativa en la secreción de CCK (Gómez, 1998; Koop, 1996).

CONCLUSIONES

- La respuesta de la glucosa en pacientes colecistectomizados fueron ligeramente exagerados después de la comida, pero dentro de los rangos normales, indicando que estos pacientes, pueden estar deterioradas el control glicémico postprandial.
- Nuestros hallazgos muestran leve incremento de las concentraciones basales del glucagón que indican cierto trastorno del metabolismo de la glucosa en pacientes colecistectomizados.
- Este estudio muestra que los pacientes colecistectomizados tienen preservados la respuesta del GLP-1 postprandial, sugiriendo que la contracción de la vesícula biliar no es un prerequisite para la respuesta del GLP-1 plasmática periférico después de una ingesta de comida.
- Con respecto a la secreción de otras hormonas incretinas GIP, y GLP-2, nosotros no encontramos ninguna diferencia en los valores basales o postprandial en pacientes colecistectomizados comparados con los sujetos control.
- En general, los pacientes colecistectomizados tuvieron una tendencia a mostrar respuesta aumentada durante todo el tiempo de las pruebas comparado con los pacientes control.

- En conclusión, nuestros resultados indican que los pacientes colecistectomizados están caracterizados por una forma leve de homeostasis de glucosa desregulada con leve deterioro de la concentración postprandial de glucosa, insulina, y glucagón.
- La colecistectomía no tiene un impacto importante en las hormonas gastrointestinales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramson DJ. (1957). Diabetes mellitus and cholecystectomy. *Ann Surg* 145:371-378.
- Carr RD, Larsen MO, Winzell MS, Jelic K, Lindgren O, Deacon CF, Ahren B. (2008). Incretin and islet hormonal responses to fat and protein ingestion in healthy men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295: E779-E784.
- Claudel T, Staels B, Kuipers F. (2005). The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 2020-2030.
- Debas HT, Farooq O, Grossman MI. (1975). Inhibition of gastric emptying is a physiological action of cholecystokinin. *Gastroenterology* 68: 1211 – 1217.
- De Santis A, Attili AF, Ginanni Corradini S, Scafato E, Cantagalli A, De Luca C, Pinto G, Lisi D, Capocaccia L. (1997). Gallstones and diabetes: a case-control study in a free-living population simple. *Hepatology* 25: 787-790.
- Douglas BR, Jansen JB, de Jong AJ, Lamers CB. Effect of varios triglycerides on plasma cholecystokinin levels in rats. *J Nutr* 1990; 120: 686-90.
- Drucker DJ. (2001). Glucagon-like peptide 2. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1759-1764.
- Drucker, D.J. (2006). The Biology of incretin hormones. *Cell Metabolism* 3, 153-165.

- Dubé PE, Brubaker PL. (2004). Nutrient, neural endocrine control of glucagon-like peptide secretion. *Horm Metab Res* 36: 755-760.
- Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. (1993). Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion pattern. *J Endocrinol* 138: 159-166.
- Fiorucci S, Mencarelli A, Palladino G, Cipriani S. (2009). Bile-acid-activated receptors: targeting TGR5 and farnesoid-X-receptor in lipid and glucose disorders. *Trends Pharmacol Sci* 30: 570-580.
- Gomez G, Upp JR Jr, Lluís F, Alexander RW, Poston GJ, Greely GH Jr, Thompson JC. (1988). Regulation of the release of cholecystokinin by bile salts in dogs and humans. *Gastroenterology* 94: 1036-1046.
- Gorboulev V, Schurmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, Veyhl-Wichmann M, Srinivasan A, Balen D, Breljak D, Rexhepaj R, Parker HE, Gribble FM, Reimann F, Lang F, Wiese S, Sabolic I, Sendtner m, Koepsell H. (2012). Na⁺-D-glucose Cotransporter SGLT1 is Pivotal for Intestinal Glucose Absorption and Glucose-Dependent Incretin Secretion. *Diabetes* 61: 187-196.
- Holst, J.J. (2006). Glucagon-like peptide-1: from extract to agent. The Claude Bernard Lecture, 2005. *Diabetologia* 49: 253-260.
- Holst JJ. (2007). The physiology of glucagón-like peptide 1. *Physiol Rev* 87: 1409-1439.
- Horowitz M, Edelbroek MA, Wishart JM, Straathof JW. (1993). Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy subjects. *Diabetologia* 36: 857 – 862.
- Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G. (2005). Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. *Biochem Biophys Res Commun* 329: 386-390.

- Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, Harada M, Yoshida H, Miwa M, Fukusumi S, Habata Y, Itoh T, Shintani Y, Hinuma S, Fufisawa Y, Fujino M. (2003). A G protein-coupled receptor responsive to bile acids. *J of Biol Chem* 278: 9434-9440.
- Kjems LL, Christiansen E, Volund A, Bergman RN, Madsbad S. (2000). Validation of methods for measurement of insulin secretion in humans in vivo. *Diabetes* 49: 580-588.
- Kjems LL, Volund A, Madsbad S. (2001). Quantification of beta-cell function during IVGTT in Type II and non-diabetic subjects: assessment of insulin secretion by mathematical methods. *Diabetologia* 44: 1339-1348.
- Knop FK. (2010). Bile-induced secretion of glucagon-like peptide-1: pathophysiological implications in type 2 diabetes? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299: E10-E13.
- Koide M, Okabayashi Y, Otsuki M. (1993). Role of endogenous bile on basal and postprandial CCK release in humans. *Dig Dis Sci* 38: 1284 – 1290.
- Koop I, Schindler M, Bosshammer A, Scheibner J, Stange E, Koop H. (1996). Physiological control of cholecystokinin release and pancreatic enzyme secretion by intraduodenal bile acids. *Gut* 39: 661-667.
- Krarup T, Holst JJ. (1984). The heterogeneity of gastric inhibitory polypeptide in porcine and human gastrointestinal mucosa evaluated with five different antisera. *Regul Pept* 9: 35-46.
- Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR. (1987). Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet* 2: 1300-1304.
- Lewis LD, Williams JA. Regulation of cholecystokinin secretion by food, hormones, and neural pathways in the rat. *Am J Physiol* 1990; 120: 686-90.
- Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E, Nakamura T, Itadani H, Tanaka K. (2002). Identification of membrane-

type receptor for bile acids (M-BAR). *Biochem Biophys Res Commun* 298: 714-719.

McDonnell CO, Bailey I, Stumpf T, Walsh TN, Johnson CD. (2002). The effect of cholecystectomy on plasma cholecystokinin. *Am J Gastroenterol* 97: 2189 – 2192.

Meier JJ, Nauck MA. (2006). Incretins and the development of type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.* 6: 194-201.

Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, Schmiegeler WH. (1997). Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 273: E981 – E988.

Orskov C, Jeppesen J, Madsbad S, Holst JJ. (1991). Proglucagon products in plasma of noninsulin-dependent diabetics and nondiabetic controls in the fasting state and after oral glucose and intravenous arginine. *J Clin Invest* 87: 415-423.

Orskov C, Rabenhøj L, Wettergren A, Kofod H, Holst JJ. (1994). Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes* 43: 535-539.

Rabinowitch IM. (1924). The incidence of diabetes mellitus in diseases of the gall bladder and its passages (biometrical study). *Can Med Assoc J* 14: 296-297.

Rehfeld JF. (1998). Accurate measurement of cholecystokinin in plasma. *Clin Chem* 44: 991-1001.

Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, Parker HE, Rogers GJ, Gribble FM. (2008). Glucose sensing in L cells: a primary cell study. *Cell Metab* 8: 532-539.

Salehi M, D'Alessio DA. (2006). New therapies for type 2 diabetes based on glucagon-like peptide 1. *Cleve Clin J Med.* 73: 382-9.

Stadil F, Rehfeld JF. (1973). Determination of gastrin in serum. An evaluation of the reliability of a radioimmunoassay. *Scand J Gastroenterol* 8: 101-112.

- Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, Auwerx J, Schoonjans K. (2008). Targeting bile-acid signaling for metabolic diseases. *Nat Rev Drug Discov* 7: 678-693.
- Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, Macchiarulo A, Yamamoto H, Matakaki C, Purzanski M, Pellicciari R, Auwerx J, Schoonjans K. (2009). TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab* 10: 167-177.
- Toft-Nielsen MB, Madsbad S, Holst JJ. (2001). Determinants of the effectiveness of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3853-3860.
- Valverde, I., Villanueva-Peñacarrillo, M.L, Malaisse, W.J. (2002). Pancreatic and extrapancreatic effects of GLP-1. *Diabetes Metab.*, 28: 3585-3589.
- Valverde, I., Cancelas, J., Villanueva-Peñacarrillo, M.L. (2006). El GLP-1: acción biológica y posibles efectos terapéuticos. *Endocrinol. Nutr.* 53: 261-267.
- Van Cauter E, Mestrez F, Sturis J, Polonsky KS. (1992). Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels. Comparison of individual and standard kinetic parameters for C-peptide clearance. *Diabetes* 41: 368-377.
- Vignolo MC, Savassi-Rocha PR, Coelho LGV, Soares MP, Cardoso-Junior A, Barbosa TFL, Ramos FV, Alves TR, Barbosa GM, Pinto DCG, Resende de CC, Boechat de CL, De Almeida AM. (2008). Gastric emptying before and after cholecystectomy in patients with cholecystolithiasis. *Hepatogastroenterology* 55: 850-854.
- Viltsboll T, Krarup T, Sonne J, Madsbad S, Volund A, Juul AG, Holst JJ. (2003). Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2706-2713.
- Watanabe M, Houten SM, Matakaki C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, Messaddeq N, Harney JW, Ezaki O, Kodama T, Schoonjans K, Bianco AC, Auwerx J. (2006). Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 439: 484-489.

ANEXOS

Anexo N° 1: Autorización para la ejecución del proyecto de investigación



PERÚ

Ministerio
de Salud

DIRECCIÓN DE SALUD IV LIMA ESTE

"Año de la promoción de la Industria Responsable y
del Compromiso Climático".

CONSTANCIA N° 021- 2014

AUTORIZACIÓN PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN

Expediente N° 24141 - 2014

Suscribo que el Pte. Documento es copia fiel del original	
MERY LUTSGARCA SALAZAR	
FEDATARIO	
01 MAR. 2015	
DIRECCIÓN DE SALUD IV LIMA ESTE - MINSA	
Sólo para uso exclusivo de la institución y el ámbito	
Jurisdiccional:	149
Registro N°:	

El Director General de la Dirección de Salud IV Lima Este por medio de la presente
deja constancia que al:

Dr.: LENIN BRUMEL TAPIA ALEJOS

Investigador principal del Proyecto de Investigación **"Respuesta hormonal postpandrial (GLP-1, GLP-2, GIP, CCK, GASTRINA) y metabolismo de la glucosa (Glucosa, insulina, peptido c, glucagon) en pacientes colecistectomizados"**, concluido el proceso correspondiente, con la aprobación del área de Investigación y el Comité de Ética en investigación de la Dirección de salud a mi cargo, se **AUTORIZA** el inicio del desarrollo del mismo, sujeto a las características que se indican en esta comunicación:

El desarrollo del Proyecto de investigación se realizará en el ámbito de las Dirección de Salud IV Lima Este según lo establecido en el proyecto.

Así mismo, hacemos de su conocimiento, que **es importante para nuestra institución contar con el informe final** así como las conclusiones y recomendaciones del estudio para su consideración en el Análisis de la Situación de Salud de nuestra Institución; la Oficina de Epidemiología realizará el monitoreo respectivo del proyecto, en esta etapa del desarrollo del mismo.

Considerando la fecha de finalización del estudio, la presente tendrá vigencia hasta el **15 de Diciembre del 2,015**, no obstante la DISA IV Lima Este podrá dejar sin efecto el desarrollo del proyecto de investigación si las condiciones para la autorización del mismo se modificaran.

El Agustino, 15 de Diciembre del 2014.

Atentamente,

MINISTERIO DE SALUD
Dirección de Salud IV Lima Este
Dr. Luis Alberto Fuentes Tafur
Director General

LAFT/EAS/DMC

www.limaeste.gob.pe

Av. Cesar Vallejo Cdra 13
El Agustino. Lima 10, Perú
T (511) 363-0909- Fax 362-7056

.....

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

<hr/>	
Testigo 1	Fecha

Testigo 2	Fecha

He explicado al Sr (a)..... la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

.....

Firma del Investigador Fecha

Anexo N° 3: Ficha de recolección de datos**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

1. NOMBRES Y APELLIDOS:
2. EDAD:
3. SEXO:
4. FECHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:
5. PROCEDENCIA
6. PESO: IMC:
7. ANTECEDENTES DE DIABETES: Si No
8. MEDICACION HABITUAL:
9. COLECISTECTOMIZADO: SI () NO ()
10. GLICEMIA EN AYUNAS
11. Hb GLICOSILADA
12. TGO TGP
13. UREA CREATININA
14. GLICEMIA POSTPRANDIAL (30, 60, 90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	

A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

15. INSULINA EN AYUNAS:

16. INSULINA POSTPRANDIAL (30, 60, 90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

17. GLUCAGON EN AYUNAS

18. GLUCAGON POSTPRANDIAL (30, 60, 90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

19. GLP-1 EN AYUNAS:

20. GLP-1 POSTPRANDIAL (30, 60,90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

21. GLP-2 EN AYUNAS

22. GLP-2 POSTPRANDIAL (30, 60,90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
--------------	--

A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

23. GIP EN AYUNAS:

24. GIP POSTPRANDIAL (30, 60,90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

25. COLECISTOCININA EN AYUNAS

26. COLECISTOCININA POSTPRANDIAL (30, 60, 90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	

27. GASTRINA EN AYUNAS

28. GASTRINA POSTPRANDIAL (30, 60, 90 y 120min después):

A LOS 30 MIN	
A LOS 60 MIN	
A LOS 90 MIN	
A LOS 120 MIN	